

Université de Sherbrooke

**Etude lipAge : Exemple d'intervention nutritionnelle pour améliorer la fonctionnalité
des lipoprotéines de haute densité chez la personne âgée**

Par
Amal Trigui
Programme de recherche en sciences de la santé

Mémoire présenté à la Faculté de médecine et des sciences de la santé
En vue de l'obtention du grade de maître ès sciences (M. Sc.) en sciences de la santé

Sherbrooke, Québec, Canada
Décembre 2019

Membres du jury d'évaluation
Abdelouhahed Khalil, Ph. D., directeur de recherche, Programmes de recherche en sciences
de la santé
François Corbin, Ph. D., membre interne, Programmes de recherche en sciences de la santé
Charles Ramassamy, Ph. D., membre externe, INRS-Institut Armand-Frappier

© Amal Trigui, 2019

Sommaire

Étude lipAge : Exemple d'intervention nutritionnelle pour améliorer la fonctionnalité des lipoprotéines de haute densité chez la personne âgée

Par

Amal Trigui

Programmes de recherche en sciences de la santé

Mémoire présenté à la Faculté de médecine et des sciences de la santé en vue de l'obtention du diplôme de maître ès sciences (M.Sc.) en sciences de la santé, Faculté de médecine et des sciences de la santé, Université de Sherbrooke, Sherbrooke, Québec, Canada, J1H 5N4

Introduction : Les maladies cardiovasculaires (MCV) représentent la première cause de mortalité dans le monde et elles affectent plus particulièrement les personnes âgées. Des altérations du profil lipidique associées à l'âge peuvent expliquer cette mortalité cardiovasculaire. Nombreuses études d'interventions pharmacologiques ont été réalisées visant à augmenter la concentration plasmatique du HDL cholestérol (HDL-C) ont mené à des résultats décevants vis-à-vis de la protection cardiovasculaire. Pour cela il était suggéré que la qualité des HDL pourrait être un meilleur marqueur du risque cardiovasculaire que le HDL-C. En termes de protection, l'huile d'olive extra-vierge (EVOO : extra virgin olive oil) a montré des effets bénéfiques sur la fonctionnalité des HDL, cependant, son effet sur la capacité d'efflux de cholestérol et sur la distribution des sous-classes de HDL n'est pas encore bien étudié chez les personnes âgées en bonne santé. **Objectifs :** Nos objectifs de recherche visent à déterminer le niveau d'altération de la fonctionnalité des HDL au cours du vieillissement et l'effet de l'EVOO sur cette fonctionnalité, d'une part, et de déterminer le lien entre la fonctionnalité des HDL et la distribution des différentes sous-classes des HDL, d'autre part. **Méthodologie :** Notre étude fait partie de l'étude LipAge qui est une étude quasi expérimentale avec un devis avant-après. Quatre-vingt-quatre (84) sujets en bonne santé ont été sélectionnés et répartis en deux groupes, soit un groupe de personnes jeunes (n=27) et un groupe de personnes âgées (n=57), supplémentées pendant 12 semaines, de 25 ml/jour en EVOO. La fonctionnalité des HDL a été déterminée par la mesure la capacité d'efflux du cholestérol (CEC) des HDL et par la mesure de leurs tailles par le système Lipoprint. **Résultats :** Nos résultats ont montré que, bien que le niveau des HDL (ou HDL-C) n'était pas significativement différent entre les personnes jeunes et les personnes âgées, la CEC des HDL était significativement plus faible dans le groupe des personnes âgées ($p < 0.001$). Pour la taille des HDL, les personnes âgées avaient un pourcentage des HDL de petite taille (HDL-P) significativement plus élevée ($p < 0.05$), en revanche, un pourcentage des HDL de grande taille (HDL-L) significativement plus faible ($p < 0.05$), comparant aux personnes jeunes. La supplémentation d'EVOO a induit une amélioration significative de la CEC chez les personnes âgées ($p < 0.005$) et elle a permis de diminuer significativement le pourcentage de HDL-P chez les personnes âgées. Aussi, nos résultats montrent que la supplémentation en EVOO induit une réduction de la TA et du taux des TG dans le groupe des âgés seulement. Nos résultats montrent aussi que la CEC est positivement et significativement corrélées avec le niveau de HDL-L ($r = 0,372$, $p < 0.05$), inversement et significativement corrélées avec les HDL-P ($r = -0.21$, $p < 0.05$). Pour les HDL-I, nous avons noté une absence de corrélation significative ($r = 0.125$, $p = 0.107$). **Conclusion :** Notre projet met en évidence des nouvelles cibles thérapeutiques prometteuses pour prévenir le risque cardiovasculaire et cela par le biais des nouvelles recommandations diététiques.

Mots clés : maladies cardiovasculaires, athérosclérose, vieillissement, fonctionnalité des HDL, capacité de l'efflux du cholestérol des HDL, sous-classes des HDL, huile d'olive.

Summary

LipAge study: Example of a nutritional intervention to improve the functionality of high-density lipoproteins in the elderly

By

Amal Trigui

Health sciences Program

Thesis presented at the Faculty of medicine and health sciences for the obtention of Master degree diploma maitre ès sciences (M.Sc.) in Health sciences, Faculty of medicine and health sciences, Université de Sherbrooke, Sherbrooke, Québec, Canada, J1H 5N4

Introduction: Cardiovascular disease (CVD) is the leading cause of death in the world that affects specially the elderly. Age associated alterations in the lipid profile may contribute to explain the cardiovascular mortality. Pharmacological intervention studies have been conducted to increase the plasma concentration of HDL cholesterol (HDL-C) led to disappointing results against cardiovascular protection. These findings suggested that HDL quality could be a better cardiovascular risk marker than HDL-C. In terms of protection, extra virgin olive oil (EVOO) has shown beneficial effects on cardiovascular health. Recently, EVOO has also shown beneficial effects on the functionality of HDL. However, its effect on cholesterol efflux capacity (CEC) and on the distribution of HDL subclasses is not yet well studied in older adults healthy. **Objectives:** We aimed in this study to access the level of impairment of HDL functionality during aging and the effect of EVOO on this feature, on the one hand, and to determine the link between HDL functionality and distribution of different subclasses of HDL, on the other hand. **Methods:** Our study is subsample of the LipAge study which is a quasi-experimental study with a before-and-after quote. Eighty-four (84) healthy subjects were recruited and divided into two groups, a group of young people ($n = 27$) and a group of older adults ($n = 57$). All the participants were asked to enrich their diets with 25 mL/day of raw EVOO for 12 weeks. HDL functionality was determined by measuring the HDL cholesterol efflux capacity (CEC) in vitro from THP-1 macrophages and measuring the size of HDL by the Lipoprint system. **Results:** Our results showed that, although the amount of HDL (or HDL-C) was not significantly different between younger and older people, CEC of HDL was significantly lower in the elderly group ($p < 0.001$). Also, the older subjects had a significantly higher percent of small HDL (HDL-S) and significant lower percent of large HDL (HDL-L) compared to young subjects ($p < 0.05$). EVOO supplementation improved significantly the CEC in the elderly ($p < 0.005$) to make it comparable to that of younger people, and it reduced significantly the percentage of HDL-S in the elderly to make the profile less atherogenic and comparable to that of young people. As well as we noted a reduction in blood pressure and triglycerides (TG) rate in the elderly group only, after EVOO supplementation. The results of our study showed that HDL-L were significantly and positively correlated with CEC ($r = 0.372$, $p < 0.05$), whereas HDL-P was inversely correlated with CEC ($r = -0.21$, $p < 0.05$). For HDL-I, we noted a lack of significant correlation ($r = 0.125$, $p = 0.107$). **Conclusion:** Our project highlights promising new therapeutic targets to prevent cardiovascular risk through new dietary recommendations.

Key words: cardiovascular disease, atherosclerosis, aging, HDL functionality, HDL cholesterol efflux capacity, HDL subclasses, olive oil.

Table des matières

Sommaire	ii
Table des matières.....	iv
Liste des figures	vii
Liste des tableaux.....	viii
Liste des abréviations.....	ix
Remerciement	xi
1 PREMIER CHAPITRE : INTRODUCTION.....	1
1.1 Introduction générale	1
1.2 Recension des écrits	3
1.2.1 Les maladies cardiovasculaires	3
1.2.1.1 Épidémiologie	3
1.2.1.2 Athérosclérose et maladies cardiovasculaires	6
1.2.1.3 Facteurs de risque de l'athérosclérose.....	6
1.2.1.4 Structure artérielle et processus d'athérosclérose	9
a. Composition de la paroi artérielle	9
b. Rôle physiologique de l'endothélium	10
c. Dysfonctionnement endothélial et stress oxydatif	10
d. Les étapes de l'athérosclérose.....	11
1.2.2 Les lipoprotéines	12
1.2.2.1 Classification des lipoprotéines (Chylomicrons, VLDL, IDL, LDL et HDL)	12
1.2.2.2 Rôle physiologique des lipoprotéines	13
1.2.2.3 Métabolisme des lipoprotéines responsable de la voie endogène et de la voie exogène : Chylomicrons, VLDL, IDL, LDL.....	14
1.2.2.4 Effet proathérogène des LDL.....	14
1.2.3 Les HDL.....	15
1.2.3.1 Structure et composition des HDL	15
1.2.3.2 Formation et métabolisme des HDL	16
1.2.3.3 Effet anti-athérogène des HDL	19
1.2.3.4 Stratégie d'augmentation des HDL	19
1.2.3.5 Les fonctions biologiques des HDL	21
1.2.3.6 Les sous-classes des HDL	24
1.2.3.7 Activités athéroprotectrice selon la sous-classe de HDL :	25
1.2.4 Le vieillissement	27
1.2.4.1 Le vieillissement et les maladies cardiovasculaires	27

1.2.4.2	La théorie radriculaire du vieillissement	27
1.2.4.3	Vieillissement et dysfonctionnement des HDL.....	28
1.2.5	Alimentation.....	28
1.2.5.1	Le régime méditerranéen et les maladies cardiovasculaires	28
1.2.5.2	Composition et types de l'huile d'olive ; Huile d'olive extra-vierge (EVOO)	29
1.2.5.3	Effet de l'EVOO sur les maladies cardiovasculaires	30
1.2.5.4	Effet de l'EVOO sur la composition et la structure des HDL.....	31
1.2.5.5	Effet de l'EVOO sur la fonctionnalité des HDL	32
1.3	Projet de recherche.....	33
2	DEUXIÈME CHAPITRE : MATÉRIELS ET MÉTHODES	34
2.1	Dispositif de recherche.....	34
2.2	Population	34
2.3	Critères d'admissibilité	34
2.4	Échantillonnage.....	35
2.5	Recrutement	35
2.6	Déroulement de l'étude.....	37
2.7	Variables de l'étude	39
2.7.1	Variable indépendante.....	39
2.7.2	Variables dépendantes et instrument de mesure	39
2.7.2.1	Variable dépendante principale.....	39
2.7.2.2	Variables dépendantes secondaires	43
2.8	Taille d'échantillon	45
2.9	Analyses statistiques	45
2.10	Considérations éthiques	46
3	TROISIÈME CHAPITRE : RÉSULTATS	46
3.1	Caractéristiques des groupes à l'étude	46
3.2	L'effet de l'âge sur la fonctionnalité des HDL	48
3.2.1	L'effet de l'âge sur la CEC des HDL.....	48
3.2.2	L'effet de l'âge sur la distribution des différentes sous-classes de HDL.....	50
3.3	L'effet de la supplémentation en EVOO sur les paramètres biochimiques	51
3.4	L'effet de la supplémentation en EVOO sur la fonctionnalité des HDL	54
3.4.1	L'effet de la supplémentation en EVOO sur la CEC des HDL :.....	54
3.4.2	L'effet de la supplémentation en EVOO sur la distribution des différentes sous-classes de HDL	59
3.5	Le lien entre la CEC et la distribution des différentes sous-classes de HDL.....	63
4	QUATRIÈME CHAPITRE : DISCUSSION	67
4.1	Discussion des résultats	67

4.2	Forces et limites	75
5	CINQUIÈME CHAPITRE : CONCLUSION	77
6	PERSPECTIVES	78
7	RÉFÉRENCES	79
8	ANNEXE	92

Liste des figures

Figure 1 : Distribution en pourcentage des principales causes de décès au Canada chez les personnes âgées de 25 à 44 ans et les personnes âgées de 65 ans et plus, en 2011	5
Figure 2 : Anatomie de la paroi artérielle.	9
Figure 3 : Composition d'une particule de HDL	16
Figure 4 : Métabolisme des HDL.....	17
Figure 5 : Affiche publicitaire utilisée dans le recrutement des participants.	36
Figure 6 : Déroulement de l'étude.	38
Figure 7 : Les étapes du dosage de la CEC des HDL.	42
Figure 8 : Exemple du résultat final du test Lipoprint pour la distribution des HDL pour un participant.	44
Figure 9 : La CEC des HDL dans le groupe jeune et dans le groupe âgé à T0.	49
Figure 10 : Comparaison de la distribution des HDL entre les jeunes et les âgés à T0.	50
Figure 11 : Effet de la supplémentation en EVOO sur la CEC des HDL chez les 84 participants. ..	55
Figure 12 : Effet de la supplémentation en EVOO sur la CEC des HDL pour le groupe de jeune et le groupe des âgés séparés.	56
Figure 13 : Comparaison de la CEC des HDL pour les 84 participants à T12.	57
Figure 14 : Effet de la supplémentation en EVOO sur la distribution des HDL dans le groupe des jeunes.	60
Figure 15 : Effet de la supplémentation en EVOO sur la distribution des HDL dans le groupe des âgés.	61
Figure 16 : Comparaison de la distribution des HDL entre les jeunes et les âgés à T12.	62
Figure 17 : Corrélation entre la CEC des HDL et la concentration des HDL larges (A), la concentration des HDL intermédiaires (B), la concentration des HDL petites (C).	65

Liste des tableaux

Tableau 1 : Propriétés physicochimiques et origine des lipoprotéines	13
Tableau 2 : Différence entre HDL3 (ou HDL-P) et HDL2 (ou HDL-L)	18
Tableau 3 : Critères d'inclusion et d'exclusion	35
Tableau 4 : Données anthropométriques et biochimiques des participants lors du recrutement (à l'état basal ou T0).....	47
Tableau 5 : Distribution des différents sous classes des HDL chez les personnes jeunes et âgées à T0	51
Tableau 6 : Paramètres biochimiques des participant avant et après la supplémentation en EVOO, différence intragroupe	52
Tableau 7 : Comparaison des données anthropométriques et biochimiques des participants après la supplémentation en EVOO (T12), différence intergroupe.....	53
Tableau 8 : Différence de la CEC des HDL entre le groupe des jeunes et le groupe des âgés à T0 et à T12	57
Tableau 9 : Corrélation de Pearson de la CEC avec l'âge, le taux de LDL-C et le taux de HDL-C, à T0 et à T12	58
Tableau 10 : Régression linéaire multiple pour les corrélations entre la CEC et les HDL-L, la CEC et les HDL-P	65

Liste des abréviations

³ H-cholestérol	Cholestérol tritié
ABCA1	<i>ATP-binding cassette transporter sub-family A member 1</i>
ABCG1	<i>ATP-binding cassette transporter sub-family G member 1</i>
ADN	Acide Désoxyribonucléique
AG	Acide gras
Apo	Apolipoprotéine
ATP III	<i>Adult Treatment Panel III</i>
AVC	Accident vasculaire cérébral
BSA	<i>Bovine serum albumin</i>
CDRV	Centre de recherche sur le vieillissement
CE	Cholestérol estérifié
CEC	Capacité de l'efflux du cholestérol
CETP	<i>Cholesterol Esterase Trasfert Protein</i>
CHUS	Centre hospitalier universitaire de Sherbrooke
CL	Cholestérol libre
CM	Chylomicrons
CT	Cholestérol total
DM	Diète méditerranéenne
ECG	Électrocardiogramme
EL	<i>Endothelial lipase</i>
ET-1	Endothéline 1
EVOO	<i>Extra virgin olive oil</i>
FDA	<i>Food and drugs administration</i>
HDL	Lipoprotéine de haute densité
HDL-C	HDL-cholestérol
HDL-I	HDL de taille intermédiaire
HDL-L	HDL de grande taille
HDL-P	HDL de petite taille
HL	<i>Hepatic lipase</i>
HO-PP	Huile d'olive enrichie avec les polyphénols
HTA	Hypertension artérielle
ICAM1	Molécule d'adhésion intercellulaire-1
IDL	Lipoprotéine de densité intermédiaire
IMC	Indice de masse corporelle
LCAT	<i>Lecithin cholesterol acyltransferase</i>
LDL	Lipoprotéine de faible densité
LDL-C	LDL-cholestérol
LIPAGE	Lipides-Âge
LPL	Lipoprotéines lipases
LRP	<i>Lipoprotein receptor-related protein</i>
MCV	Maladie cardiovasculaire
NaOH	Hydroxyde de sodium
NMR	<i>Nuclear Magnetic Resonance</i>
NO	Monoxyde d'azote

OMS	Organisation mondiale de la santé
PAF-AH	<i>Platelet activating factor-acetylhydrolase</i>
PBS	<i>Phosphate-buffered saline</i>
PEG	Polyéthylène glycole
PLTP	<i>Phospholipid transfer protein</i>
PMA	<i>Phosbol-myrisate-actétate</i>
PON1	Paraoxonase 1
PREDIMED	<i>Primary Prevention of Cardiovascular Disease with Mediterranean Diet</i>
ROS	<i>Reactive oxygen species</i>
SAA	Serum amyloid A
SIP	Sphingosine-1-phosphate
SR-B1	Récepteur scavenger-B1
TA	Tension artérielle
TG	Triglycérides
TIC	Transport inverse du cholestérol
VCAM1	Molécule d'adhésion des cellules vasculaires 1
VLDL	Lipoprotéine de très faible densité

Remerciement

Le présent travail est non seulement le résultat de notre courage, sacrifice, patience et endurance, mais aussi une participation de plusieurs personnes qui nous sont chères.

Je voudrais dans un premier temps remercier mon directeur de recherche Pr Abdelouahed Khalil pour sa patience, sa disponibilité tout au long de la réalisation de ce mémoire et surtout ses judicieux conseils, qui ont contribué à alimenter ma réflexion.

Pr Khalil a toujours été très ouvert à mes propositions, idées et hypothèses, ce que j'interprète comme une grande marque de confiance envers mon travail. Le sentiment de confiance que j'ai ressenti de sa part m'a permis d'avancer et d'apprécier toujours plus cet univers scientifique. Au cours de ces deux ans, j'ai pu grandir, acquérir de l'expérience et saisir des opportunités uniques et gratifiantes. Merci infiniment Pr Khalil pour tout ce que tu as fait.

Je remercie également Dr Hicham Berrougui pour l'aide qu'il a fournie et les connaissances qu'il a su me transmettre en ce qui concerne les manipulations dans le laboratoire et particulièrement dans la culture cellulaire. J'ai beaucoup appris grâce à leur professionnalisme et leur savoir-faire.

Je tiens aussi à remercier très chaleureusement mon collègue de laboratoire Dr Olivier Kamtchueng Simo pour l'aide et le support qu'il m'avez apportés, ainsi que pour ces encouragements et sa gentillesse, qui ont fait de ces deux ans un moment très plaisant et intéressant.

Un merci spécial à mes parents, Maher et Amel, qui m'ont toujours incité à me surpasser et à toujours donner le meilleur de moi-même. Leur soutien inconditionnel et leurs encouragements ont été un facteur déterminant dans mon parcours. Sans eux, je n'en serais pas là.

Finalement, j'aimerais remercier mon organisme subventionnaire, la Mission Universitaire de Tunisie à Montréal, pour leur soutien financier dont j'ai pu bénéficier tout au long de ma formation.

1 PREMIER CHAPITRE : INTRODUCTION

1.1 Introduction générale

Aujourd'hui, partout dans le monde, les gens vivent plus longtemps. Selon l'Organisation mondiale de la santé (OMS), la plupart des gens ont une espérance de vie supérieure à 60 ans, pour la première fois dans l'histoire, ce qui explique l'augmentation rapide et permanente du nombre des personnes âgées. Entre 2015 et 2050, il est prévu que la proportion des 60 ans et plus dans la population mondiale va presque doubler pour atteindre 2 milliards contre 900 millions en 2015 (« Vieillissement et santé, OMS », 2015). Ce changement démographique affecte particulièrement les pays industrialisés parmi lesquels le Canada. En 2018, 17,2 % de la population canadienne était âgée de 65 ans et plus, comparativement à 9,9 % en 1983, et ce pourcentage ne devrait que s'accroître d'ici 2031 (Statistique Canada, 2018).

Le vieillissement de la population soulève de nombreux enjeux économiques et sociaux, particulièrement dans le domaine de la santé. Avec l'avancement en âge, on observe une prévalence plus élevée de maladies chroniques (Crimmins, 2004), parmi laquelle les MCV. Chez les personnes âgées de 65 ans et plus, les MCV représentent la majeure cause de mortalité au Canada en 2011 (Statistique Canada, 2011). Pour la population globale, les MCV représentent la première cause de mortalité dans le monde en 2015 (« Cardiovascular diseases (CVDs) », 2015) et la deuxième cause de mortalité au Canada en 2011 (Statistique Canada, 2011).

Malgré les améliorations considérables apportées aux soins médicaux au cours des 25 dernières années, les MCV restent un problème majeur de santé publique (Chapman et al., 2011). Selon la Fondation des maladies du cœur du Canada, les MCV coûtent à l'économie canadienne plus de 22,2 milliards de dollars annuellement en services médicaux, en coûts hospitaliers, en perte de salaire et en perte de productivité (Poirier, 2012).

Les MCV sont définies, selon l'OMS, comme étant l'ensemble de troubles affectant le cœur et les vaisseaux sanguins (« Cardiovascular diseases (CVDs) », 2015). Leur cause la plus courante est l'athérosclérose qui est un processus évolutif caractérisé par une accumulation de lipides et de cellules inflammatoires sur les parois internes des vaisseaux sanguins (Libby, 2002). Depuis les toutes premières études épidémiologiques sur les MCV, menées au cours des années 1960 à 1980, dont notamment les plus connus *Minnesota Business Men Study* (Keys et al., 1963) et *Framingham Study* (Gordon et al., 1977), plusieurs facteurs de risque des MCV ont été identifiés. Selon l'étude

INTERHEART menée dans 52 pays à travers le monde, les dyslipidémies représentent le facteur de risque le plus important de l'infarctus du myocarde (Yusuf et al., 2004). Particulièrement, des concentrations plasmatiques élevées du cholestérol des lipoprotéines de faible densité (LDL-C) et des concentrations faibles du cholestérol des lipoprotéines de haute densité (HDL-C) sont considérées comme des facteurs de risque indépendants des MCV (Castelli et al., 1986).

Nombreuses études ont montré que les personnes âgées ont un stress oxydatif accru et des systèmes de défense antioxydants altérés (Oliveras-López et al., 2013). Ce stress oxydatif entraîne une oxydation de lipoprotéines, particulièrement les LDL, dont leur oxydation joue un rôle majeur dans l'initiation et la progression de la plaque d'athérosclérose (Siti et al., 2015). Contrairement au LDL, les HDL ont de multiples fonctions antiathérogènes dont la principale fonction est leur capacité de transport du cholestérol excédentaire des cellules périphériques vers le foie où il va être éliminé (Arora et al., 2016).

Afin de diminuer le risque cardiovasculaire, plusieurs programmes d'interventions ont été réalisés. Ces interventions ont ciblé premièrement les niveaux de LDL-C dont leur réduction représente, selon les directives du *National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III* (NCEP ATP III), la principale stratégie dans la protection cardiovasculaire. Les statines sont les agents hypolipémiants les plus utilisés et qui ont montré une diminution de 30 à 45% dans la survenue d'événements cardiovasculaires (Downs et al., 1998). Cependant, une prise de statines à hautes doses ou à long terme peut avoir de nombreux effets indésirables, notamment des myopathies (Chapman et al., 2011), des maladies rénales et hépatiques (Vasudevan et al., 2005, Mao & Huang, 2014), de même que le diabète (Cui et al., 2018). Cela a mené à la recherche d'autres cibles d'intervention, notamment une augmentation des taux de HDL-C comme moyen de prévention contre les MCV. Plusieurs interventions pharmacologiques ont été développées ayant comme objectif d'augmenter la concentration plasmatique ou la quantité des HDL-C. Cependant, ces interventions ont mené à un échec vis-à-vis la protection cardiovasculaire et certaines études ont même rapporté une augmentation du risque de mortalité (Hernaez et al., 2016). Ces résultats ont remis en question la pertinence de l'augmentation de la quantité des HDL-C tout en mettant l'accent sur leur qualité.

La qualité ou la fonctionnalité des HDL est la capacité des HDL à assurer leurs différentes fonctions antiathérogènes dont les plus importantes sont le transport inverse du cholestérol, l'activité antioxydante et l'activité anti-inflammatoire. Toutefois, il est important de souligner qu'il existe différentes sous-classes de HDL qui en raison de différences dans leur composition et dans leur structure, diffèrent également au niveau de leurs activités anti-athérogènes.

En termes de prévention, le fait de conserver des comportements sains tout au long de la vie, en particulier d'avoir un régime alimentaire équilibré pourrait réduire le risque cardiovasculaire. À cet égard, le régime alimentaire méditerranéen a montré des effets bénéfiques sur la santé cardiovasculaire. Une récente méta-analyse incluant 26 études a montré que ce régime était associé à une réduction de 20 à 25 % dans le risque cardiovasculaire (Rosato et al., 2019). L'effet bénéfique de ce régime a été attribué essentiellement à sa richesse en huile d'olive extra-vierge (EVOO) qui est caractérisée par une richesse en acide gras (AG) mono-insaturé et en composés bioactifs, particulièrement en polyphénols. La consommation de l'EVOO a montré des effets bénéfiques sur les principaux facteurs de risque des MCV, citant le profil lipidique, la pression artérielle, le métabolisme du glucose, le stress oxydatif et les profils thrombotiques (López-Miranda et al., 2010). Cependant son effet sur le transport inverse du cholestérol et la distribution des différentes sous-classes des HDL n'est pas encore bien étudié chez les personnes âgées en bonne santé, quoique l'âge représente un facteur de risque cardiovasculaire très important.

Notre projet vise à déterminer le niveau d'altération de la fonctionnalité des HDL au cours du vieillissement et l'effet de l'EVOO sur cette la distribution des sous-classes de HDL et sur leur fonctionnalité.

1.2 Recension des écrits

1.2.1 *Les maladies cardiovasculaires*

Les MCV sont définies selon l'OMS comme étant l'ensemble de troubles affectant le cœur et les vaisseaux sanguins. Elles sont généralement des événements aigus qui sont dus principalement au blocage partiel ou total d'une artère empêchant le sang de parvenir au cœur ou au cerveau (« Cardiovascular diseases (CVDs) », 2015). Ce blocage peut affecter tout le système vasculaire de l'aorte aux artères coronaires (Rafieian-Kopaei et al., 2014). Leur cause la plus courante est l'athérosclérose qui se caractérise par l'accumulation des lipides sur la paroi interne des artères (Libby, 2002). À part les blocages au niveau des artères, les MCV peuvent être due à un problème structurel ou fonctionnel au niveau du cœur, citant les troubles du rythme cardiaque, les cardiopathies structurelles et l'insuffisance cardiaque (Statistique Canada, 2011).

1.2.1.1 *Épidémiologie*

Les MCV représentent la première cause de mortalité dans le monde estimé à 31 % du taux de mortalité mondial en 2015 (« Cardiovascular diseases (CVDs) », 2015) et la deuxième cause de mortalité au Canada estimé par 25.2 % de la population canadienne (Statistique Canada, 2014). Il

existe des différences dans la répartition par groupe d'âge des décès dus à ces maladies. On trouve que l'incidence des MCV augmente considérablement avec l'âge (Holzer et al., 2013). En effet, les personnes âgées de 65 ans et plus représentent la tranche d'âge la plus affectée par les MCV chez lesquels 27% des décès sont dû aux MCV, contre 8% pour les personnes âgées entre 25 à 44 ans (Statistique Canada, 2011) (Figure 1). L'analyse des causes de décès selon le genre montrent que les maladies du cœur occupent le deuxième rang chez les femmes que chez les hommes avec une pourcentage de 1.9% plus chez les hommes (Statistique Canada, 2011).

De plus, il faut noter que la prévalence des MCV augmente chez des groupes ethniques et raciales particulières (Ski et al., 2014). Par exemple, les taux d'interventions cardiaques sont plus faibles chez les patients noirs et hispaniques en comparant aux patients blancs (Freund et al., 2011). De même, les taux d'admission sont plus faibles et les durées de séjour plus courtes dans les unités de soins cardiaques chez les patients noirs que chez les patients blancs raciale (Shippee et al., 2011). Finalement, la population du sud de l'Asie est plus touchée par les MCV en comparant à la population africaine et la population européenne (Jack son, 2008).

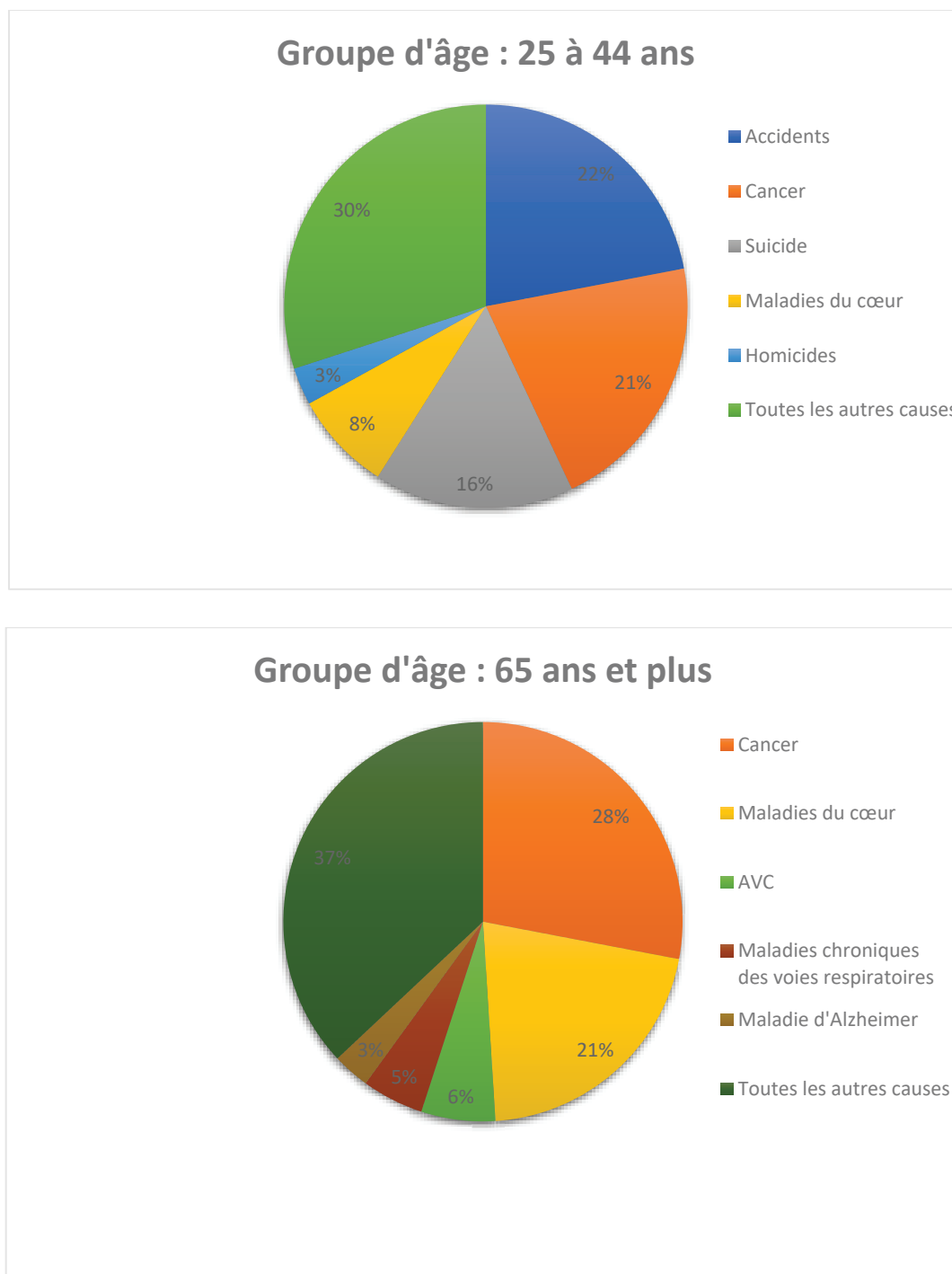


Figure 1 : Distribution en pourcentage des principales causes de décès au Canada chez les personnes âgées de 25 à 44 ans et les personnes âgées de 65 ans et plus, en 2011.

Tiré et modifié de (Statistique Canada, 2011), <https://www150.statcan.gc.ca/n1/pub/82-625-x/2014001/article/11896-fra.htm>.

1.2.1.2 *Athérosclérose et maladies cardiovasculaires*

L'athérosclérose représente la cause la plus courante qui sous-tend généralement la morbidité et la mortalité cardiovasculaire (Kontush & Chapman, 2006). C'est un processus évolutif qui se caractérise par une accumulation de lipides et de cellules inflammatoires sur la paroi interne des artères, l'intima (Libby, 2002). Les premières lésions athérosclérotiques apparaissent dès l'enfance et, à la fin de la deuxième décennie, des lésions athérosclérotiques asymptomatiques sont présentes chez la plupart des gens, mais restent sans conséquence cliniques. La présence d'un ou plusieurs facteurs de risque favorise l'accumulation progressive de graisse dans ces lésions entraînant une réduction de la lumière de la paroi artérielle qui peut finir par une occlusion partielle ou complète de l'artère (Chen & Frishman, 2016). L'occlusion au niveau de l'artère empêche le sang oxygéné de parvenir aux différents organes, parmi lesquelles le cœur et le cerveau, ce qui ne se manifeste cliniquement pas les MCV.

1.2.1.3 *Facteurs de risque de l'athérosclérose*

L'athérosclérose est une pathologie inflammatoire chronique et multifactorielle (Varthaman et al., 2008). Dans la littérature, nombreux facteurs de risques des MCV ont été défini par des études de cohortes et des essais randomisés. Ils sont classés en facteurs de risque modifiables et non modifiables :

- Facteurs de risque modifiables :
 - **Dyslipidémie** : La dyslipidémie correspond à une altération des taux de lipides sanguins notamment, l'augmentation des taux de cholestérol total (CT), de LDL-C et des triglycérides (TG) et la diminution des taux de HDL-C (Gagné, 1994). Selon l'étude INTERHEART menée dans 52 pays à travers le monde, les dyslipidémies représentent le facteur de risque le plus important de l'infarctus du myocarde (Yusuf et al., 2004). Particulièrement, des concentrations plasmatiques élevées de LDL-C et des concentrations faibles de HDL-C sont considérées comme des facteurs de risque indépendants des MCV (Castelli et al., 1986; Majeed & Miller, 2008). Les niveaux idéaux pour le cholestérol total et diverses lipoprotéines sont les suivants (Jacques Genest et al., 2009) :

Cholestérol total < 4.5 mmol / L (6 à 19 ans)

< 5.2 mmol / L (20 à 79 ans)

Cholestérol LDL < 3.5 mmol / L

Cholestérol HDL > 1.0 mmol / L chez les hommes

> 1.3 mmol / L chez les femmes

- **Hypertension artérielle** : L'hypertension artérielle (HTA) est un facteur de risque indépendant, son rôle est déterminé par son impact sur les conditions hémodynamiques et la charge métabolique dans l'ensemble du réseau vasculaire (Tsioufis et al. 2018). L'augmentation de la pression hémodynamique au cours de l'HTA endommage la paroi artérielle et augmente sa perméabilité aux lipides et de ce fait contribue au développement de l'athérosclérose. De plus, la sécrétion de l'angiotensine II en concentration élevée chez ces patients hypertensifs stimule l'inflammation et l'oxydation des lipoprotéines qui sont considérées comme deux déclencheurs principaux de l'athérosclérose (Asgary et al., 2014, Asgary et al., 2013).

Obésité : L'obésité, en particulier l'obésité viscérale, augmente le risque cardiovasculaire. L'indice de masse corporelle (IMC) est largement utilisé comme un marqueur d'obésité. Plusieurs études ont montré qu'un IMC élevé est associé de manière significative, chez l'homme comme chez la femme, au risque d'incidence de MCV (Rabkin et al., 1977, Hubert et al., 1983). Cependant, étant donné que la mesure de l'IMC ne tient pas en compte la distribution de la graisse dans le corps, quelques chercheurs suggèrent plus, aujourd'hui, la mesure du tour de taille pour déterminer le risque cardiovasculaire (Obesity Canada, 2019). Cette relation entre l'obésité viscérale et les MCV est expliquée par le fait que l'accumulation de graisse corporelle entraîne des changements métaboliques, augmente la prévalence des facteurs de risque de MCV tels que HTA, la dyslipidémie, la résistance à l'insuline et le diabète sucré et affecte également les systèmes modulant l'inflammation (Mathieu et al., 2009).

- **Diabète** : le diabète occupe la 6^{ème} cause de décès au Canada en 2011 (Statistique Canada, 2011). Ce dernier représente un facteur de risque important qui se développe souvent en même temps avec d'autres facteurs comme l'hyperlipidémie et l'HTA (Tsioufis et al., 2018). Les MCV correspondent à la principale cause de morbidité et de mortalité chez les diabétiques (Petrie et al., 2018). Cette pathologie a un impact critique sur la pathogenèse et la progression de l'athérosclérose (Tsioufis et al., 2018a). Pour cela, les facteurs de risque cardiovasculaires doivent être systématiquement évalués au moins une fois par an chez tous les patients diabétiques.
- **Tabagisme** : Le risque cardiovasculaire est trois fois plus élevé chez les fumeurs en comparaison aux personnes qui n'ont jamais fumé et ce risque augmente avec le nombre de cigarettes fumées par jour (Hankey, 1999). Selon l'OMS, 10% de tous les décès dus aux MCV sont causés par le tabagisme (« WHO | WHO global report », 2012). Il n'y a

pas un niveau de tabagisme sans danger, même si les fumeurs passifs ont à risque de développer les MCV (Jackson, 2008).

- **Alimentation** : le régime alimentaire est l'un des plus importants déterminants modifiables du risque cardiovasculaire (Brunner & Iso, 2008). Il a été démontré que ce risque est étroitement lié au régime alimentaire suivi, principalement, aux types des lipides consommés (Grundy & Denke, 1990, Mensink & Katan, 1992). Dans l'Europe du Nord et les États-Unis, le risque cardiovasculaire est plus élevé comparativement aux pays du sud de l'Europe (citant la France, Espagne, Grèce et Italie). Cet écart est expliqué par le régime alimentaire méditerranéen qui est considéré comme un régime favorable à la santé cardiovasculaire (Urpi-Sarda et al., 2012).
- Les facteurs de risques non modifiables :
 - **L'âge** : Les MCV augmentent considérablement avec l'âge et ils représentent une source de préoccupation majeure pour la population âgée (Holzer et al., 2013). Cette relation bien établie entre les MCV et l'âge est dû aux plusieurs modifications biologiques qui apparaissent au cours du vieillissement. Ces modifications décrivent l'exposition cumulative chronique à tous les autres facteurs de risque citant la dyslipidémie, l'HTA, le diabète (Oliveras-López et al., 2013).
 - **Le sexe** : Les hommes âgés entre 40 et 60 ans sont au moins deux fois plus susceptibles de mourir d'une MCV que les femmes du même âge. Cependant, cette différence disparaît à la fin de cette tranche d'âge (Jackson, 2008). La ménopause s'est avérée être l'égaliseur, vu que, après cette phase les œstrogènes perdent leur effet protecteur naturel (Tsioufis et al., 2018a).
 - **Les antécédents familiaux** : Une personne qui arrive à un certain âge et qui a des antécédents familiaux des MCV doit redoubler de vigilance. Le risque des MCV augmente si le père ou le frère a reçu un diagnostic de maladie cardiaque avant l'âge de 55 ans, ou si la mère ou la sœur a reçu un diagnostic de maladie cardiaque avant l'âge de 65 ans (Rafieian-Kopaei et al., 2014).

1.2.1.4 Structure artérielle et processus d'athérosclérose

a. Composition de la paroi artérielle

La paroi artérielle est constituée de trois tuniques qui, de l'intérieur vers l'extérieur, sont : l'intima, la média et l'adventice. Ces couches sont séparées de deux couches élastiques soient, la limitante interne et la limitante externe qui servent à relier les tuniques entre eux (Bonnet, 2005) (Figure 2).

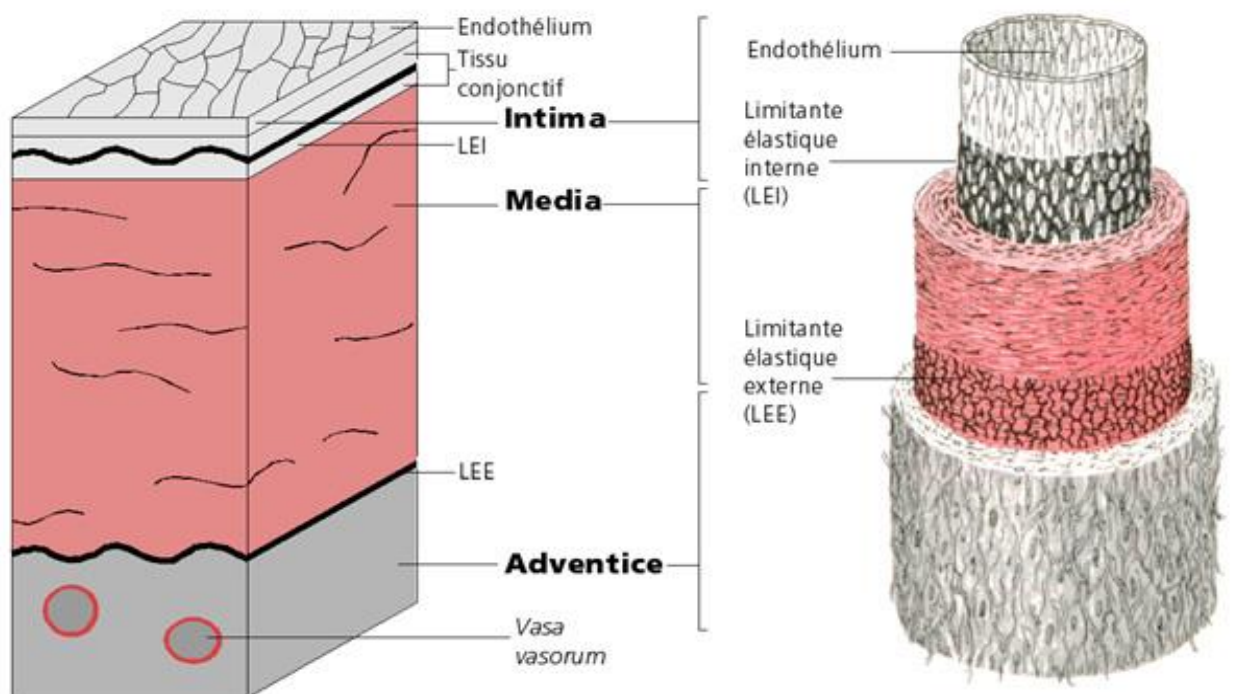


Figure 2 : Anatomie de la paroi artérielle.

Emprunté de <http://www.123bio.net/revues/jleoni/1chap2.html> avec l'autorisation de 123bio, biologie et recherche (« 123bio.net : Biologie et Recherche »).

- L'intima : la couche la plus interne de l'artère. Elle est constituée d'une monocouche endothéliale sous-jacente d'une membrane basale contient du collagène, de la laminine, la fibronectine et d'autres molécules de matrice extracellulaire (Oikonomou et al., 2018). En l'absence d'athérosclérose, c'est une couche extrêmement mince.
- La média : la couche la plus épaisse dans les artères. Elle contient des cellules musculaires lisses et des fibres élastiques dont leur proportion varie en fonction de la distance du cœur (Oikonomou et al., 2018).
- L'adventice : la couche externe protectrice (Bonnet, 2005). Elle contient des fibres collagènes et élastiques, ainsi que, une population cellulaire composée de fibroblastes et des mastocytes (Oikonomou et al., 2018).

b. Rôle physiologique de l'endothélium

L'endothélium est connu comme étant un organe endocrinien important. Il représente le régulateur principal de l'homéostasie vasculaire (Fountoulakis et al., 2018). Dans des circonstances normales, l'endothélium en contact avec le sang résiste à l'adhésion des leucocytes et des plaquettes sanguines. L'origine de cette résistance est la sécrétion, par la paroi endothéliale, des substances ayant un rôle vasodilatateur et anti-thrombogène (p. ex. le monoxyde d'azote (NO) et l'endothéline 1 (EN1)) (Oikonomou et al., 2018). De plus l'endothélium assure la médiation de la prolifération cellulaire, des mécanismes inflammatoires et immunitaires de la paroi vasculaire et module le tonus du muscle lisse vasculaire par la sécrétion des facteurs de relaxation et des facteurs de contraction (Rubanyi, 1993). Ces fonctions permettent à l'endothélium d'offrir une protection contre les phénomènes physiopathologiques stressants (tel que l'inflammation, la thrombose et les dommages vasculaires) (Fountoulakis et al., 2018).

c. Dysfonctionnement endothélial et stress oxydatif

Le dysfonctionnement endothélial est défini comme une transition d'un état endothélial « au repos » à un état « activé » (Fountoulakis et al., 2018). Le dysfonctionnement endothélial est considéré comme un stade précoce du processus d'athérosclérose. Il se caractérise par une faible production de NO endothélial, par une fonction de barrière réduite et à des propriétés proadhésives, procoagulantes et prolifératives accrues. À la suite de ces modifications pathologiques, la perméabilité endothéliale sera augmentée ce qui déclenche l'accumulation des lipides sous l'endothélium d'où l'initiation de la formation de la plaque d'athérosclérose (Siasos et al., 2007).

La cause majeure de ce dysfonctionnement endothélial est l'augmentation de la production dans l'organisme des espèces réactives d'oxygène (ROS : reactive oxygen species) à la suite d'un stress oxydatif (Bourassa & Tardif, 2006). Le stress oxydatif est un état de déséquilibre entre les oxydants et les antioxydants dans l'organisme en faveur des oxydants, entraînant des effets néfastes (Siti et al., 2015). Les ROS ou les oxydants sont des espèces chimiques qui dérivent du métabolisme de l'oxygène dans les mitochondries (Siti et al., 2015). Ces ROS possèdent un électron célibataire sur leur couche périphérique, ce qui leur confère un fort degré de réactivité (Migdal & Serres, 2011). À cause de son caractère instable, les ROS attaquent des biomolécules comme les protéines, les acides aminés, l'acide désoxyribonucléique (ADN) et particulièrement les lipoprotéines circulantes aboutissent à la formation de lipoprotéines oxydées qui représente le facteur clé de l'initiation de l'athérosclérose. Ce stress oxydant peut avoir diverses origines, endogènes et exogènes (Haleng et al., 2007). Parmi les facteurs endogènes, le vieillissement qui se caractérise par une élévation de la production des ROS et une défaillance dans le système antioxydant (Oliveras-López et al., 2013).

Comme facteurs exogènes, un faible apport alimentaire en antioxydant peut engendrer un état de déséquilibre antioxydant/oxydant.

Les ROS peuvent avoir un rôle physiologique ou un effet toxique en fonction de leur concentration (Haleng et al., 2007). À l'état physiologique, les ROS sont produits en faible quantité et jouent un rôle important dans la biosignalisation et la protection de l'organisme contre les organismes pathogènes (Haleng et al., 2007).

d. Les étapes de l'athérosclérose

Les plaques d'athérosclérose sont constituées à la suite de l'accumulation des matériaux dégénératifs principalement les débris lipidiques, les macrophages, de tissu conjonctif et fibreux (Oikonomou et al., 2018a). Les lipides, particulièrement le cholestérol, jouent un rôle très important dans l'initiation du processus athérosclérotique. Puisque les lipides sont des molécules hydrophobes, ils sont transportés dans le plasma sous la forme de complexes protéiques, les lipoprotéines (Bonnet, 2005). Le processus de l'athérosclérose implique principalement des changements dans les propriétés de l'intima caractérisée par une faible production de NO endothélial, par une altération de leur fonction de barrière (Siasos et al., 2007) et avec des changements de la réactivité de la média et de l'adventice (Oikonomou et al., 2018). Ces lésions se développent sous un endothélium anatomiquement présent, mais, qui fonctionne d'une manière anormale.

La plaque d'athérosclérose se caractérise par deux parties : un noyau lipidique mou 'athérosis' et une couche de collagène dur 'sclérosis' (Rafieian-Kopaei et al., 2014). Tout d'abord, le noyau lipidique se forme à la suite d'une hyperlipidémie, notamment, une augmentation de la concentration plasmique des LDL-C (Rafieian-Kopaei et al., 2014). En même temps, l'altération de la fonction endothéliale amène à l'augmentation de la perméabilité endothéliale des particules et favorise la pénétration des LDL dans le sous-endothélium. L'accumulation des LDL dans l'intima déclenche leur oxydation lors de conditions de stress oxydatif (Zhang et al., 2014). Par la suite, ces LDL oxydées seront captées par les macrophages via des récepteurs membranaires dont l'activité n'est pas régulée par la concentration intracellulaire du cholestérol. Ce processus amène progressivement à la transformation des macrophages en cellules spumeuses (Ghaffari & Ghasvand, 2010). En réponse à la captation des LDL, l'endothélium s'active et exprime à sa surface des molécules d'adhésion (Molécule d'adhésion des cellules vasculaires 1 (VCAM-1), Molécule d'adhésion intercellulaire-1 (ICAM-1)) qui favorisent le recrutement des leucocytes dans la paroi sous endothéliale, produisant ainsi encore plus des cellules spumeuses (Libby, 2002). Ces cellules remplies de lipides sécrètent des cytokines pro-inflammatoires qui amplifient la réponse inflammatoire locale de la lésion, ainsi que des ROS (Libby, 2002). L'accumulation de ces cellules spumeuses sur les parois artérielles entraîne

la formation des stries lipidiques. Parallèlement, les cellules du muscle lisse du média migrent pour former une couche dure 'sclérosis' riche en collagène, de macrophages et de lymphocytes T. L'ensemble du noyau lipidique et de la chape fibreuse représentent la plaque d'athérosclérose.

Ce dépôt de graisse sous endothéliale aboutit parfois à une réduction du calibre artériel, mais sans effets cliniques immédiats. Cependant, certaines de ces lésions restent dans un état actif. Dans ce cas, les macrophages sécrètent des enzymes appelés métalloprotéinases matricielles qui peuvent affaiblir la chape fibreuse et induire la rupture de la plaque ce qui se manifeste par une obstruction brutale du vaisseau et l'apparition d'un événement clinique majeur, infarctus de myocarde ou accident vasculaire cérébraux (AVC) (Rafieian-Kopaei et al., 2014).

1.2.2 Les lipoprotéines

Les lipides, comme le cholestérol, les TG et les phospholipides, sont transportés dans le sang sous la forme de complexes macromoléculaires de lipides et de protéines appelées lipoprotéines. La structure générale des lipoprotéines est représentée par une partie centrale hydrophobe contenant des TG, des esters de cholestérol et des vitamines liposolubles, ainsi qu'une coque externe hydrophile composée de phospholipides, de cholestérol et d'apolipoprotéines (Apo) (Barter & Rye, 2014). Les Apo constituent les éléments structuraux essentiels des lipoprotéines. Elles jouent un rôle central dans l'assemblage des lipoprotéines, le transport des lipides, en plus, ces Apo jouent un rôle métabolique en interagissant avec une multitude de protéines circulantes et membranaires (Ramasamy 2014).

1.2.2.1 Classification des lipoprotéines (Chylomicrons, VLDL, IDL, LDL et HDL)

Les lipoprotéines peuvent être classées dans différentes classes distinctes selon leurs compositions et leurs propriétés physicochimiques (Genest, 2003). Fréquemment, les lipoprotéines sont classées en se basant sur leur densité en cinq classes qui sont : les chylomicrons (CM), les lipoprotéines de très faible densité (VLDL), les lipoprotéines de densité intermédiaire (IDL), les lipoprotéines de faible densité (LDL) et les lipoprotéines de haute densité (HDL). Passant des CM au HDL la densité des lipoprotéines augmente et la taille diminue (Tableau 1).

Tableau 1 : Propriétés physicochimiques et origine des lipoprotéines

Lipoprotéines	Origine	Densité g/ml	Diamètre Å	Composition en lipides	Apolipoprotéines majoritaires
Chylomicrons	Intestin	<0.94	900-5000	TG alimentaires	B-48
VLDL	Foie	<1.006	500	TG endogènes	B-100
IDL	VLDL	1,000-1,019	300	Cholestérol, TG	B-100, E
LDL	IDL	1,019-1,063	200	Cholestérol	B-100
HDL	Foie et intestin	1,063-1,120	25	Cholestérol	A-1

Tiré et modifié de (J Genest, 2003) et (Gagné et al., 1994)

1.2.2.2 Rôle physiologique des lipoprotéines

Les lipoprotéines ont différentes origines, leur rôle principal est de transporter les lipides par l'intermédiaire de trois voies : voie exogène, voie endogène et le transport inverse du cholestérol (révisé dans l'article de (Ramasamy, 2014)).

- Voie exogène (ou voie entéro-hépatique) : correspond au transport des lipides exogènes provenant de l'alimentation, essentiellement les TG, de l'intestin vers le foie. Cette voie est assurée par les CM.
- Voie endogène : correspond au transport des lipides endogènes, TG et cholestérol, synthétisé par le foie aux tissus périphériques. Cette voie est assurée par les VLDL, les IDL et les LDL.
- Le transport inverse du cholestérol (TIC) (ou voie de retour) : correspond au transport du cholestérol excédentaire présent dans les tissus périphériques et les macrophages vers le foie pour être éliminé. Cette voie est assurée par les HDL.

1.2.2.3 *Métabolisme des lipoprotéines responsable de la voie endogène et de la voie exogène : Chylomicrons, VLDL, IDL, LDL*

Lors de l'ingestion, les graisses sont émulsionnées par les sels biliaires, ce qui conduit à la formation de micelles. Sous l'action des lipases pancréatiques, ces micelles seront hydrolysées en AG libres et en mono et diglycérides (J Genest, 2003). Les AG libérés pénètrent dans les entérocytes où ils seront réassemblés avec les Apo B-48 dans de très grandes lipoprotéines, les CM, et sécrétés dans la circulation sanguine. Dans la circulation périphérique, spécifiquement, dans les capillaires du tissu adipeux ou des cellules musculaires, les CM seront hydrolysés par des lipoprotéines lipases (LPL) (J Genest, 2003). Pour les définir, les LPL sont des enzymes synthétisés par différents cellules et tissus, majoritairement, par le muscle squelettique, le muscle cardiaque et le tissu adipeux (Ramasamy, 2014). Tous les CM disparaissent généralement de la circulation dans les 12 à 14 heures qui suivent un repas (Ramasamy, 2014). Les AG libérés à la suite de l'hydrolyse des CM sont absorbés par les cellules musculaires pour la production d'énergie, ou ils seront stockés par les cellules adipeuses (Chapman et al., 2011). Aussi, ces AG peuvent être impliquées dans la formation des VLDL dans le foie par la suite de leur réassemblage avec les Apo B-100 (Ramasamy, 2014). Une fois dans le plasma, les VLDL suivent la même voie catabolique que les CM. Ces particules seront remodelées via l'action des protéines de transfert lipidique (*Cholesterol Esterase Trasfert Protein* ou CETP) et (*Phospholipid transfer protein* ou PLTP) et des lipases hépatique (*Hepatic lipase* ou HL) et endothéliale (*Endothelial lipase* ou EL) pour générer des particules plus petites et plus denses, puis des IDL (Rafieian-Kopaei et al., 2014). Les particules IDL peuvent subir un catabolisme supplémentaire de la part de la LPL pour devenir LDL enrichie en cholestérol et appauvrie en TG avec une seule protéine restante d'Apo B100. Les LDL seront captées par le foie via les récepteurs *lipoprotein receptor-related protein* (LRP) et les récepteurs LDL pour les cataboliser. Ou bien, ils contribuent directement à la formation des plaques d'athérosclérose suite à leur passage dans l'espace sous endothéliale (Chapman et al., 2011).

1.2.2.4 *Effet proathérogène des LDL*

Les LDL sont caractérisées par leur richesse en cholestérol. La fonction des LDL est d'apporter le cholestérol aux tissus périphériques. Un taux plasmatique élevé des LDL-C et leurs oxydations représentent l'un des principaux déclencheurs biochimiques de la formation de la plaque d'athérosclérose, ainsi que leur progression (Siti et al., 2015). Cela est supporté par nombreuses études qui ont montré qu'un taux plasmatique élevé de LDL-C est associé à un niveau de risque cardiovasculaire élevé (Castelli et al., 1986; Arsenault et al., 2009).

Selon les directives NCEP ATP III, la réduction des taux de LDL-C représente la principale cible des stratégies de protection cardiovasculaire. Les agents hypolipémiants les plus utilisés sont les statines, qui sont des inhibiteurs de l'enzyme HMG-CoA réductase responsable dans la biosynthèse du cholestérol (Stancu & Sima, 2001). L'administration au niveau clinique des statines a permis une réduction de 30 à 45% le risque des MCV ce qui était principalement attribué à une réduction du LDL-C (Downs et al., 1998, Heart Protection Study Collaborative Group, 2002). Cependant, une prise de statines à hautes doses ou à long terme peut avoir des effets indésirables parmi lesquelles, le risque d'élévation de la glycémie, de l'acide urique, des enzymes hépatiques et la myopathie (Chapman et al., 2011, Duong et al., 2015). Pour les patients qui ne tolèrent pas les statines, il existe d'autres traitements hypolipémiants, citant les fibrates, la niacin et l'ézetimibe, qui ont montré des effets bénéfiques. Cependant, les hypolipémiants non-statines ont chacun leur propre profil d'effets indésirables, qui doit être pris en compte avant leur utilisation (Wilkinson et al., 2014). Ces données ont amené à penser à des stratégies supplémentaires pour réduire le risque cardiovasculaire, qui ciblent cette fois les HDL (Duong et al., 2015).

1.2.3 Les HDL

1.2.3.1 Structure et composition des HDL

Les HDL sont les lipoprotéines les plus petites, mais aussi les plus denses. Elles se trouvent dans l'intervalle de densité hydratée (1,063–1,21 g / ml) (Choi et al., 2017). Leur forme peut être sphérique ou discoïdale. Au niveau de leurs compositions, les HDL se caractérisent par une teneur élevée en protéines par rapport aux autres lipoprotéines (Kontush & Chapman, 2006). La protéine la plus importante des HDL est l'Apo A-I qui représente environ 70% de sa masse protéique, tandis que la seconde Apo majeure des HDL, Apo A-II, représente 20%. Le reste, environ 10 %, est occupé par des protéines mineures dont l'Apo E, Apo A-IV, Apo A-V, Apo J, Apo C-I, Apo C-II et Apo C-III (Kontush & Chapman, 2006), ainsi que les enzymes et les protéines de transfert lipidique, y compris la LCAT, la CETP, la PLTP, la paraoxonase 1 (PON1) et le *Platelet activating factor-acetylhydrolase* (PAF-AH) (Camont et al., 2011). Ces protéines ont un rôle fondamental dans les différentes propriétés anti-athérogènes des HDL.

À part les protéines, les HDL contiennent des lipides dont les principaux sont des phospholipides, suivis du cholestérol estérifié (CE), des TG et du cholestérol libre (CL) (Choi et al., 2017). Ils sont organisés spatialement selon leurs propriétés hydrophiles : phospholipides et CL dans la monocouche hydrophile externe qui renferme un noyau hydrophobe riche en CE et TG (Fernández-Castillejo et al., 2017). Ces lipides interviennent dans la stabilité et la fluidité des HDL, deux déterminants majeurs

de la fonctionnalité de ces particules (Fernández-Castillejo et al., 2017, Arora et al., 2016) (Figure 3).

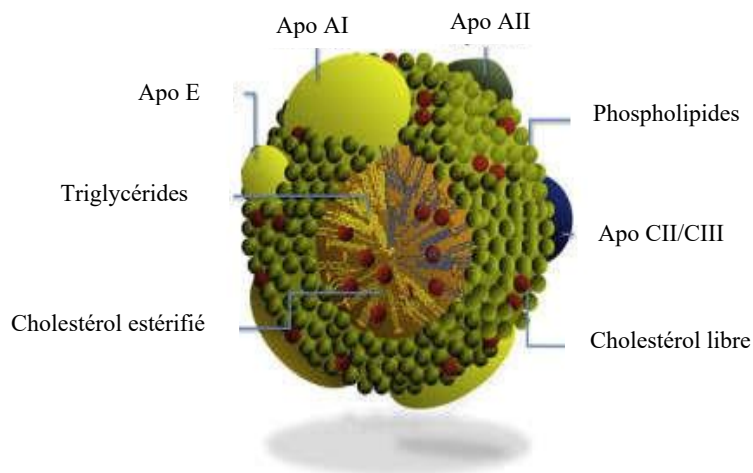


Figure 3 : Composition d'une particule de HDL.

Emprunté et adaptée de (Brites et al., 2017) avec l'autorisation de Elsevier et Copyright clearance Center.

1.2.3.2 Formation et métabolisme des HDL

La biogenèse des HDL est un processus complexe impliquant plusieurs protéines plasmatiques et membranaires (Zannis et al., 2004) (Figure 4). La première étape de la biogenèse des HDL implique la sécrétion de l'Apo A-I principalement par le foie et l'intestin (Zannis et al., 1985). Cependant, l'Apo A-I est également libérée suite au catabolisme des VLDL et LDL et peut finalement être libérée lors de l'interconversion des HDL3 (ou HDL petite) et HDL2 (ou HDL large) (von Eckardstein et al., 2001) (Tableau 2). Une fois formée, ces Apo A-I interagissent avec les récepteurs membranaires *ATP-Binding Cassette Transporter sub-family A member 1* (ABCA1) des hépatocytes et des entérocytes pour transférer le cholestérol et les phospholipides à ces particules pauvres ou appauvries en lipides (Zannis et al., 2015). Les Apo A-I, les phospholipides et le cholestérol forment ensemble les HDL naissantes ou les préβ-HDL. Ces HDL naissantes sont des particules instables, elles continuent à s'enrichir en cholestérol via le récepteur membranaire ABCA1 et se transforment progressivement en particules discoïdales riches en cholestérol non estérifié (Atmeh et al., 2005). Par la suite, sous l'action des LCAT, une enzyme liée aux HDL, le CL est estérifié puis transféré vers le noyau de la particule permettant ainsi une conversion progressive des particules naissantes de formes discoïdales en particules HDL sphériques (HDL3). Les HDL3 contiennent deux molécules d'Apo A-I qui seront convertis par la suite en grandes particules HDL de formes sphériques (HDL2)

contenant trois molécules d'Apo A-I (Liang et al., 1996) (Tableau 2). Au cours de leur maturation, les HDL3 et les HDL2 continuent à s'enrichir en cholestérol via le récepteur membranaire SR-B1 (ou *Scavenger receptor class B type I*) et/ou le transport ABCG1 (ou *ATP-binding cassette sub-family G member 1/4*) (ABCG1) (Gautier et al., 2011). Les HDL matures chargées en cholestérol seront ensuite transportées vers le foie pour décharger leur contenu en cholestérol via le récepteur SR-B1 dans la bile, pour être éliminées par la suite dans les fèces (Fisher et al., 2012). De plus, ces HDL matures peuvent interagir avec les lipoprotéines riches en TG (VLDL/ LDL) via l'enzyme CETP pour échanger leur contenu en cholestérol contre les TG. De cet échange se forment des HDL riches en TG, soit les HDL2. Ces dernières seront converties à leur tour en HDL3 via l'action de la PLTP. Dans les deux cas, le foie représente le principal organe permettant d'éliminer le cholestérol (Kontush & Chapman, 2006). Récemment, des études ont montré une implication mineure de l'intestin dans le catabolisme du cholestérol via la voie trans-intestinale, mais cela n'est pas encore bien étudié (Blanchard et al., 2014).

Cette interaction des HDL avec les différents récepteurs cellulaires aboutit à la fois à l'absorption cellulaire de cholestérol et à leur libération. En prenant en considération le sens du flux de cholestérol, deux composants ont été défini : l'efflux de cholestérol et l'influx de cholestérol. L'efflux de cholestérol est le mouvement de cholestérol de la cellule vers un accepteur extracellulaires. Cependant, l'influx du cholestérol est le mouvement du cholestérol dans le sens inverse (Rothblat et al., 2002).

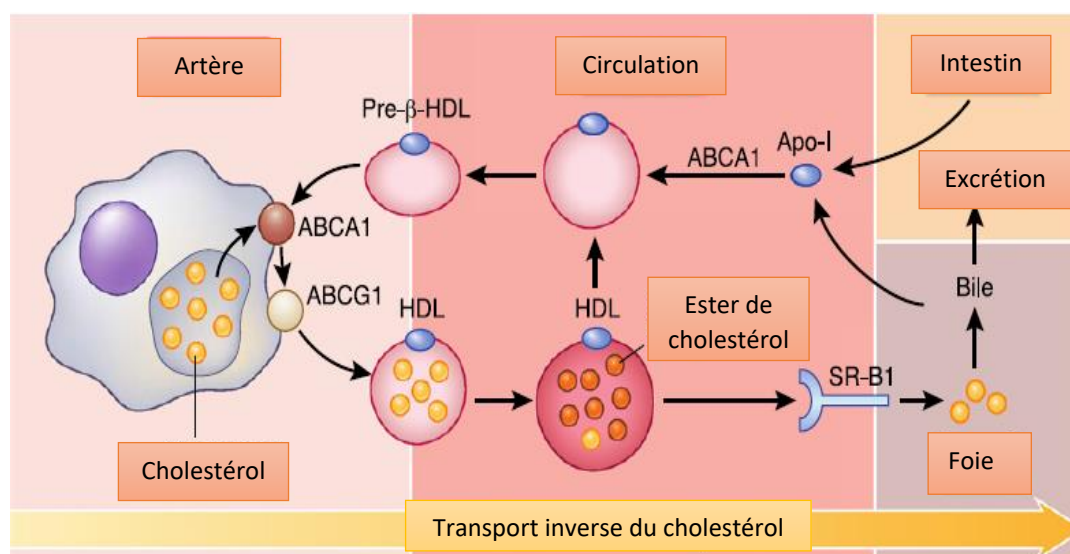


Figure 4 : Métabolisme des HDL.

Emprunté et adaptée de (Anastasius et al., 2016) avec l'autorisation de Elsevier et Copyright clearance Center.

Tableau 2 : Différence entre HDL3 (ou HDL-P) et HDL2 (ou HDL-L)

	HDL 3 (ou HDL-P)	HDL2 (ou HDL-L)
Forme	Petite / Discoïdale	Large / Sphérique
Densité	Dense 1.125–1.21 g/ml	Léger 1.063–1.125 g/ml
Taille	8-9 nm	9-10 nm
	<ul style="list-style-type: none"> • Protéines +++ 	<ul style="list-style-type: none"> • Lipides +++
	Apo A-1, Apo J, Apo L-1, Apo F, PON 1/3, PLTP et PAF-AH	CE, TG, sphingomyéline et céramide
Composition	<ul style="list-style-type: none"> • Lipides 	<ul style="list-style-type: none"> • Protéines
	Cholestérol non estérifié, phosphatidylcholine, lyso-phosphatidylcholine, phosphatidylsérine et acide phosphatidique	Apo A-1, Apo E, Apo C-I, Apo C-II et Apo C-III

(Camont et al., 2011; Kontush & Chapman, 2006; Talbot et al., 2018)

1.2.3.3 *Effet anti-athérogène des HDL*

Contrairement aux LDL, les HDL jouent un rôle important dans la protection contre la formation de la plaque d'athérosclérose (Arora et al., 2016). Plusieurs études épidémiologiques prospectives ont montré que des faibles concentrations sériques de HDL constituent un facteur de risque fort et indépendant pour les MCV (Camont et al., 2011). Selon les lignes directrices NCEP ATP III, un taux de HDL <1.027 mmol/L est considéré comme faible et constitue l'un des prédicteurs du risque de coronaropathie (Expert Panel on Detection, 2001). De plus d'autres études ont montré qu'une diminution de 0.026 mmol/L de HDL est associée à une augmentation 3% du risque de coronaropathie chez les femmes et de 2% chez les hommes (Gotto & Brinton, 2004). Cette corrélation entre le niveau HDL sérique et le risque de MCV a suscité un intérêt croissant pour l'étude de ce biomarqueur.

1.2.3.4 *Stratégie d'augmentation des HDL*

Comme déjà mentionné, les études cliniques et épidémiologiques ont constamment montré qu'une faible concentration plasmatique de HDL-C est étroitement et indépendamment associée avec un risque élevé des MCV (Di Angelantonio et al., 2009) et ce risque persiste même si le taux du LDL-C est dans les normes recommandées (Chapman et al., 2011). L'étude de Framingham a montré qu'une augmentation de 0,26 mmol/L du HDL-C était associée à une diminution significative du risque relatif de MCV, de 19% chez les hommes et de 28% chez les femmes (Wilson et al., 1988). Cette association était aussi quantifiée dans l'étude de Covas et al., dans laquelle ils ont montré qu'une augmentation de 0,026 mmol /L des taux de HDL-C a été associée à une diminution de 2% à 3% du risque de coronaropathie (Covas et al., 2006). Sur la base de ces données, plusieurs interventions pharmacologiques ont été développées visant à augmenter la concentration plasmatique de HDL-C. Cependant ces interventions ne conduisent pas toujours à une diminution du risque cardiovasculaire et certaines études ont même rapporté une augmentation du risque de mortalité suite à l'utilisation de ces agents (Hernaez et al., 2016).

Une des stratégies qui permettent l'augmentation du HDL-C est l'inhibition de la CETP. La CETP est une enzyme clé impliquée dans la maturation des HDL. Elle permet d'échanger le contenu des HDL en cholestérol contre les TG contenues dans les VLDL et les LDL, résultant à la formation de HDL riche en TG (Barter et al., 2015). En raison de son rôle, la CETP permet d'accélérer la clairance des HDL et de l'Apo A-I induisant une diminution des taux plasmatiques de HDL, d'Apo A-I et la formation de HDL dysfonctionnelle riche en TG (Kontush & Chapman, 2006). Les études antérieures ont montré que les personnes ayant un déficit en CETP présentent des concentrations plus élevées de

HDL-C et des concentrations plus faibles de cholestérol dans les lipoprotéines non HDL (Brown et al., 1989, Teh et al., 1998). Partant de ce fait, l'inhibition des CETP a devenu susceptible d'augmenter la quantité de HDL dans le sang, aboutissant ainsi à la diminution du risque cardiovasculaire (Chen & Frishman, 2016).

Le Torcetrapib, le premier inhibiteur de la CETP utilisé dans le cadre de l'étude « ILLUMINATE » pour tester son effet sur la protection cardiovasculaire (Barter et al., 2007). Le Torcetrapib a permis d'augmenter le niveau de HDL d'environ 70%. Cependant, cette étude a été interrompue prématurément en raison d'une surmortalité et de l'augmentation du nombre d'événements cardiovasculaires expliqué, en partie, par une action non ciblée du Torcetrapib sur la pression artérielle et à des modifications électrolytiques, provoquées par l'hyperaldostérisme (Hu et al., 2009, Forrest et al., 2008).

Plus récemment, le Dalcetrapib, un autre inhibiteur de la CETP, a eu des effets plus modestes sur le niveau de cholestérol HDL. Les études sur cet inhibiteur ont été arrêtées de façon précoce pour des raisons de fatalité et l'absence d'effet clinique (Pirillo et al 2013, Choi et al., 2017).

En dépit de ces échecs, l'Anacetrapib et l'Evacetrapib deux autres inhibiteurs de la CETP ont été étudiés. Ces deux molécules sont plus puissantes que le Dalcetrapib et ne présenteraient pas les mêmes effets indésirables que le Torcetrapib (Barter & Rye, 2012). Cependant, les études récentes sur l'Evacetrapib ont été aussi arrêtées en raison d'un manque d'efficacité clinique (Eyvazian & Frishman, 2017). Seul l'Anacetrapib, en tant qu'inhibiteur de la CETP, est toujours cours d'évaluation (Chen & Frishman, 2016).

En résumé, toutes ces interventions utilisant les inhibiteurs de CETP, ont mené à des résultats décevants en matière de protection contre les MCV et certaines études ont rapporté un risque de mortalité accru (Hernández et al., 2017).

En plus, une autre étude a montré que l'association entre le taux de HDL-C et les MCV est atténuée par un ajustement qui tient en compte la concentration des particules LDL (Kathiresan et al., 2006). Tous ces résultats supportent l'hypothèse que la concentration de HDL-C ne constitue pas toujours un bon marqueur du risque cardiovasculaire, car elle ne reflète pas la fonctionnalité de ces particules (Ortiz-Munoz et al., 2016) et que les propriétés anti-athérogènes des HDL peuvent dépendre des types de particules présentes in vivo plutôt que du taux de HDL-C (Arora et al., 2016, Helal et al., 2013). Même en l'absence de taux bas de HDL-C, des HDL dysfonctionnels peuvent être impliqués de manière causale dans le développement et la progression des maladies cardiovasculaires (Holzer

et al., 2013). Les études actuelles suggèrent que l'évaluation de la fonctionnalité ou la qualité des HDL pourrait être la méthode adéquate pour prévenir le risque des MCV (Favari et al., 2015).

1.2.3.5 Les fonctions biologiques des HDL

La qualité ou la fonctionnalité des HDL est la capacité des HDL à assurer leurs différentes fonctions antiathérogènes. Les HDL sont bien connues pour leur rôle protecteur dans les MCV (Arora et al., 2016). Ce rôle est dû aux différentes fonctions des HDL qui sont bien documentées, dont les plus importantes sont le transport inverse du cholestérol, l'activité antioxydante et l'activité anti-inflammatoire.

a) Le transport inverse du cholestérol (TIC) :

L'une des principales activités anti-athérogènes des HDL est la régulation de l'homéostasie du cholestérol via le processus du TIC (Helal et al., 2013). Le TIC, comme il est formulé pour la première fois par Glomset, est une série de processus par lesquels les HDL sont capables de transporter le cholestérol en excès des cellules périphériques vers le foie pour l'excréter dans la bile et les fèces (Glomset, 1968). Cette fonction représente la principale méthode de biogenèse des HDL à partir de particules naissantes pauvres en lipides qui au cours de leur maturation vont se transformer en des particules sphériques chargées de cholestérol (Rader et al., 2009). Le TIC est composé de trois parties: (1) l'efflux de cholestérol, où ces lipoprotéines acceptent le cholestérol en excès des cellules; (2) le remodelage des lipoprotéines, où les HDL subissent des modifications structurales pouvant avoir un impact sur leur fonction; et (3) l'absorption des lipides hépatiques, où les HDL transfèrent le cholestérol vers les cellules hépatiques, pour son excrétion finale dans la bile et les fèces (Favari et al., 2015).

Sur le plan clinique, l'évaluation du TIC chez l'homme est limitée jusqu'à présent (Rohatgi et al., 2014). La méthode pour évaluer le TIC *in vivo* consiste en une perfusion intraveineuse de cholestérol marqué isotopiquement stable ($^{13}\text{C}_2$ -cholestérol) pendant environ 24 heures, avec des prélèvements sanguins fréquents pour l'analyse du CL plasmatique, du cholestérol érythrocytaire et de l'ester de cholestérol marqué au ^{13}C (Turner et al., 2012). De plus, les selles sont collectées les jours suivant pour la mesure de l'excrétion fécale en stérol (Turner et al., 2012). Toutefois, une des limites de cette méthode est qu'elle ne permet pas de mesurer l'efflux de cholestérol spécifique aux macrophages et par conséquent ne permet pas de distinguer le niveau du cholestérol provenant de la paroi artérielle. De plus, sa capacité à différencier les tissus hépatiques et périphériques (non hépatiques) en tant que source d'élimination du cholestérol n'a pas été définitivement prouvée (Rosenson et al., 2012). À part cette méthode, une nouvelle approche *in vivo*, spécifique aux macrophages, a été développée

utilisant des nanoparticules (albumine) marquées au ^3H -cholestérol pour mesurer le TIC chez l'homme, mais cette méthode n'est pas encore validée pour une utilisation en clinique (Cuchel et al., 2017).

Vu la complexité et les limites des méthodes de mesure du TIC *in vivo*, les études ont ciblé juste la première étape du TIC qui est la capacité d'efflux du cholestérol (CEC) des HDL. Cette dernière était mesurée *in vitro* en utilisant des macrophages, elle représente actuellement la méthode la plus reconnue pour une évaluation du TIC. La CEC est définie par le mouvement du cholestérol des membranes cellulaires (macrophages et cellules spumeuses) vers les accepteurs extracellulaires des HDL (Berrougui et al., 2007). Les méthodes qui mesurent la CEC ont été utilisées avec succès dans des études cliniques, révélant des corrélations inverses entre la CEC, l'épaisseur de l'intima-média carotidienne et le risque de maladie coronarienne, et ce, indépendamment du taux de HDL-C (Khera et al., 2011). De plus, dans des grandes études récentes, il a été démontré que la CEC était associée à la fois à la prévalence et à l'incidence de la coronaropathie (Rohatgi et al., 2014, Anastasius et al., 2016).

Au niveau mécanistique, l'efflux du cholestérol se produit par le biais de plusieurs mécanismes impliquant les transporteurs ABCA1 et ABCG1, le récepteur de type SR-B1 et la diffusion passive (Camont et al., 2011) (Figure3).

- Voie du transporteur ABCA1 :

Cette voie permet le transfert du cholestérol cellulaire et de phospholipide vers l'Apo A-I délipidé ou pauvre en lipides pour donner formation à des pré- β HDL (ou HDL naissante) (Fisher et al., 2012). Il était démontré que ce transfert joue un rôle majeur dans l'efflux du cholestérol, vu que l'Apo A-I est responsable de 75 à 80% de l'efflux via la voie ABCA1 (Fielding & Fielding, 1981 ; Rohatgi, 2015). Des études génétiques ont montré que des mutations de ABCA1 chez l'homme modifiant leurs fonctions sont associées à une susceptibilité accrue à l'athérosclérose (Bodzioch et al., 1999; Fitzgerald et al., 2002).

- Voie du transporteur ABCG1 :

Cette voie est responsable d'environ 20% de l'efflux de cholestérol cellulaire (Adorni et al., 2007). Elle assure le transport du cholestérol vers les HDL matures (Camont et al., 2011). L'ABCA1 et les ABCG1 sont deux voies énergie dépendante et elles assurent le transport unidirectionnel du cholestérol des cellules périphériques vers les HDL (Baldán et al., 2009).

- Voies des récepteurs SR-B1 :

Cette voie favorise le transport bidirectionnel du cholestérol (Camont et al., 2011). D'un côté, les SR-B1 ont une contribution faible dans l'efflux du cholestérol des cellules périphériques vers les HDL, environ 9% (Adorni et al., 2007). De l'autre côté, ces récepteurs représentent la principale voie qui facilite la délivrance de cholestérol aux tissus stéroïdogènes et au foie (Arora et al., 2016).

- Voie de la diffusion passive :

Cette voie assure le transport bidirectionnel du cholestérol. La direction du transport est déterminée par le gradient de concentration de cholestérol et elle se fait via une interaction directe des HDL avec les membranes plasmatiques des cellules sans l'implication des transporteurs ou des récepteurs (Yvan-Charvet et al., 2008).

b) Fonction anti-inflammatoire

La réponse inflammatoire locale est une caractéristique prédominante de l'athérosclérose (Barter et al., 2004). Les HDL sont capables d'inhiber l'inflammation grâce à plusieurs de ces composants protéiques et lipidiques, notamment l'Apo A-I, l'Apo A-II, l'Apo A-IV et des phospholipides, tels que la sphingosine-1-phosphate (S1P) et sphingosylphosphorylcholine (Kontush & Chapman, 2006). Parmi ces effets, les HDL permettent de réduire l'expression des molécules d'adhésion induites par les cytokines sur les cellules endothéliales, d'inhiber l'adhésion des monocytes à l'endothélium, d'agir directement sur les monocytes, d'inhiber la production de multiples cytokines et chimiokines pro-inflammatoires et de réduire l'activation des neutrophiles (Camont et al., 2011).

c) Fonction antioxydante

Grâce à sa richesse en enzyme, les HDL sont capables d'inhiber l'oxydation des LDL, un facteur clé dans l'initiation et la progression de l'athérosclérose (Navab et al., 2004). Cette fonction peut être directement exercée par les HDL via deux étapes. Premièrement, les HDL extraient les lipides oxydés des LDL. Deuxièmement, selon leur nature, ces lipides oxydés seront désactivés par les résidus méthionine de l'ApoA-I ou bien par les enzymes PON1, PAF-AH et/ou LCAT associées aux HDL (Camont et al., 2011). De plus, les HDL peuvent effectuer cette fonction d'une façon indirecte, dans ce cas les HDL inhibent les événements oxydatifs et le stress oxydant via d'autres fonctions athéroprotectrices, telles que l'induction de l'efflux de cholestérol et les actions anti-inflammatoires (Arora et al., 2016).

d) Fonction antithrombotique

Les plaquettes sont impliquées dans l'initiation, la progression et la rupture des lésions athérosclérotiques (Holy et al., 2014). Les HDL peuvent réduire l'agrégation plaquettaire en inhibant

les facteurs favorisant la coagulation sanguine particulièrement le taux de facteur de von Willebrand, en renforçant l'activité des protéines C et S activées et en ayant des effets favorables sur les cellules endothéliales (Arora et al., 2016).

e) Fonction vasodilatatrice

Le dysfonctionnement endothélial résultant de l'inactivation de NO par des ROS joue un rôle important dans le développement et la progression de l'athérosclérose (Rubanyi, 1993). Les HDL se lient aux récepteurs SR-BI et S1P qui stimulent l'oxyde synthase résultant en la libération de NO et la production de prostacycline par les cellules endothéliales (Camont et al., 2011).

f) Fonction anti-apoptotique

L'apoptose et la nécrose des cellules de la paroi artérielle peuvent contribuer au développement des plaques d'athérosclérose. Les HDL sont capables de protéger les cellules de l'apoptose grâce à ces Apo A-I, Apo-E et Apo-J ainsi que les lipides mineurs S1P et la sphingosyl phosphorylcholine (Negre-Salvayre et al., 2006). Les HDL contribuent à cette protection par plusieurs mécanismes : (i) l'efflux cellulaire de cholestérol oxydé, (ii) une diminution de la génération intracellulaire de ROS, (iii) préservation de l'intégrité mitochondriale (iv) stimulation de la synthèse de NO par interaction des HDL avec SR-BI et (v) stimulation de la migration des cellules endothéliales par induction de la signalisation intracellulaire via les récepteurs S1P (Camont et al., 2011).

L'amélioration des fonctions antiathérogènes des HDL constitue aujourd'hui l'une des options dans la prise en charge des patients à haut risque cardiovasculaire (Gautier et al., 2011). Particulièrement la CEC, qui représente la principale cible pour les études physiopathologiques et les interventions thérapeutiques actuelles. Cependant, la CEC des HDL est fortement dépendante de la distribution des sous-classes de HDL (George H. Rothblat & Phillips, 2010)

1.2.3.6 Les sous-classes des HDL

La particule HDL est extrêmement dynamique qui subit un remodelage et un recyclage constants (Choi et al., 2017). Cela résulte en la formation des différentes sous-classes dont la taille, ainsi que la densité, la composition en Apo et en lipides varient constamment (Anastasius et al., 2016). Cette variation dans les sous-classes de HDL entraîne une hétérogénéité dans leur fonction, particulièrement, dans leur capacité à effectuer l'efflux de cholestérol cellulaire (Ortiz-Munoz et al., 2016). Afin de déterminer la distribution des différentes sous-classes de HDL, plusieurs techniques d'analyse fines ont été développées permettant de séparer les HDL en fonction de leurs propriétés

physicochimiques (Camont et al., 2011). Cependant, il n'existe pas de nomenclature unique pour les sous-fractions HDL, et cela dépend de la technique de séparation utilisée :

- Ultracentrifugation : la première approche appliquée à l'isolement et au sous-fractionnement des lipoprotéines en fonction de la densité. Elle permet de classer les HDL en deux sous-classes principales, HDL2 (1,063-1,125 g/ml) et HDL3 (1,125-1,21 g/ml) (Camont et al., 2011).
- L'électrophorèse sur gel en gradient : permet de séparer les HDL en cinq sous-populations distinctes de tailles décroissantes : HDL2b (10,6 nm), HDL2a (9,2 nm), HDL3a (8,4 nm), HDL3b (8,0 nm) et HDL3c (7,6 nm) (George et al., 2010).
- L'électrophorèse sur gel 2D : permet de séparer les HDL en deux sous-populations principales sur la base de la mobilité électrophorétique. La sous-fraction principale a une densité de charge négative relativement élevée et est appelée α -HDL, tandis que l'autre fraction est appelée pré- β HDL (George et al., 2010).
- L'électrophorèse d'immuno-affinité : sur la base de la composition en apolipoprotéines. Cette méthode permet d'obtenir des HDL ne contenant que l'apoA-I (LpA-I) et l'apoA-II, l'apoA-II (LpA-I / A-II) (George et al., 2010).
- La Spectroscopie par résonance magnétique nucléaire (NMR) : permet d'identifier trois sous-classes de HDL en fonction de leur taille soit, les HDL-Larges (HDL-L), les HDL-intermédiaires (HDL-I) et les HDL-petites (HDL-P) (Camont et al., 2011).
- Le Système Lipoprint Quantimetrix : est la technique la plus récente. Elle permet de déterminer jusqu'à dix différentes sous-classes de HDL en fonction de leurs tailles et de les regrouper en HDL-L (HDL-1 à 3), HDL-I (HDL-4 à 7) et HDL-P (HDL-8 à 10) (Helal et al., 2013).

Compte tenu de la grande hétérogénéité des HDL, il n'est pas surprenant que le niveau de HDL-C ne puisse pas refléter à lui seul la fonctionnalité des HDL (Khera et al., 2011). Il est maintenant évident que la distribution des particules HDL est un facteur déterminant de sa CEC (Anastasius et al., 2016). Cependant, des divergences existent dans la littérature concernant lesquelles des sous-classes des HDL présenteraient la meilleure fonction athéroprotectrice.

1.2.3.7 Activités athéroprotectrice selon la sous-classe de HDL :

Les études épidémiologiques ont montré que les sous-classes de HDL diffèrent dans leurs activités athéroprotectrices. Une diminution des HDL2 ou HDL-L et une augmentation du HDL3 ou HDL-P sont associées à un risque élevé des MCV (Hernaiz et al., 2016). Cela a été démontré chez les

personnes ayant des maladies coronariennes, des accidents vasculaires cérébraux ischémiques et chez les patients atteints de maladie artérielle périphérique (Farràs et al., 2015). Le même résultat était démontré dans l'étude d'Arsenault et al. qui a porté sur 1 035 hommes et les femmes en bonne santé ayant développé une coronaropathie en comparaison à un groupe contrôle de 1 920 exempts de maladie coronarienne au cours de la période de suivi de 6 ans (Arsenault et al., 2009). Une réduction similaire des HDL2 et une augmentation des HDL3 ont également été observées chez les diabétiques de type 2 non obèses, chez les sujets en surpoids et obèses, chez les sujets atteints de syndromes métaboliques et chez les sujets atteints de diabète avec une maladie coronarienne comparativement aux sujets atteints de coronaropathie sans diabète (Pirillo et al., 2013). De même, l'âge a également corrélé positivement avec les concentrations des HDL2 et négativement avec celles de HDL3 (Luc et al., 1991). Tous ces résultats suggèrent que les HDL-L (ou HDL-2) ont un meilleur effet athéroprotecteur vu que leur faible taux est associé à un risque cardiovasculaire élevé. Cela était expliqué par les changements fonctionnels et de confirmation, qui subissent les HDL au cours de leurs maturations, permettant ainsi leurs interactions avec un large éventail de protéines membranaires (ABCG1, LCAT, SR-B1) (Arora et al., 2016).

À l'inverse, les études cliniques et génétiques (in vitro) contredisent les résultats des études épidémiologiques, suggérant que les pré- β HDL et les HDL3 sont les plus efficaces pour permettre l'efflux de cholestérol (Talbot et al. 2018). Ces études supportent l'idée que les interventions permettant d'augmenter le taux HDL-P in vivo apporteraient un plus grand bénéfice que celles favorisant une élévation du HDL-L. À titre d'exemple, les résultats de l'étude de cohorte longitudinale multicentrique de Kim et al. dans laquelle 2 924 adultes sans MCV de base ont été suivis pendant une durée moyenne de 9,4 ans, ont montré que les niveaux de HDL-P sont fortement et inversement associés avec un épaississement de la paroi artérielle de la carotide et ayant la plus grande CEC (Kim et al., 2016). Ces résultats sont en cohérence avec l'étude mécanistique in vitro de Du et al. qui ont montré que les HDL-P, denses (HDL3) sont les médiateurs les plus efficaces de l'efflux du cholestérol des macrophages (Du et al., 2015). Ces résultats sont expliqués par le fait que la CEC dépend du type des lipides présents dans les HDL. En effet, une diminution de la teneur en lipides des HDL augmente sa capacité à éliminer le cholestérol cellulaire (Kontush & Chapman, 2006). Par conséquent, ces études considèrent que les particules de HDL-P, dense, pauvres en lipides et riches en protéines représentent des accepteurs de cholestérol plus efficaces que les HDL larges (Kontush & Chapman, 2006).

La divergence entre les résultats des études épidémiologiques et les études d'expérimentation sur les animaux, d'une part, et les études génétiques et cliniques, d'autre part, soulignent la pertinence d'une meilleure compréhension de la fonction des HDL et de chacune de ces sous-classes.

1.2.4 Le vieillissement

1.2.4.1 Le vieillissement et les maladies cardiovasculaires

Selon l'OMS, le vieillissement est défini, du point de vue biologique, par le produit de l'accumulation d'un vaste éventail de dommages moléculaires et cellulaires au fil du temps. Celle-ci entraîne une dégradation progressive des capacités physiques et mentales, une majoration du risque de maladie et, enfin, le décès (« Vieillissement et santé », 2015). Le vieillissement de la population est bien plus rapide que dans le passé. D'ici à 2050, on s'attend à ce que la population mondiale âgée de 60 ans et plus atteigne 2 milliards de personnes, contre 900 millions en 2015 (« Vieillissement et santé », 2015). Avec l'avancement en âge, la prévalence de maladies chroniques augmente, particulièrement l'athérosclérose (J Genest, 2003), qui est responsable de la majorité de la morbidité et de la mortalité cardiovasculaires chez les personnes âgées. Selon le score de risque Framingham, le risque cardiovasculaire augmente d'un point dans le score tous les 5 ans (Dhingra & Vasan, 2012).

1.2.4.2 La théorie radicalaire du vieillissement

Afin d'expliquer le processus du vieillissement et les changements qui lui sont associés, plusieurs théories ont été proposées. Cependant, la théorie la plus supportée pour expliquer le vieillissement est celle des radicaux libres proposés pour la première fois par Harman en 1956 (Harman, 1956). Cette théorie stipule que les maladies liées au vieillissement sont le résultat de l'accumulation des dommages oxydatifs causés par les ROS dont leur production augmente en vieillissant, tandis que, le système défensif oxydant diminue. Cet état de déséquilibre antioxydant/oxydant est à l'origine d'un stress oxydatif qui induit de sa part des dommages oxydatifs qui touchent les différentes composantes de la cellule comme l'ADN, les mitochondries, les protéines et les lipides entraînant ainsi la dégénérescence et la mort cellulaire (Haleng et al., 2007).

A l'appui de cette théorie, plusieurs études ont montré que les personnes âgées ont un stress oxydatif accru et des systèmes de défense antioxydants altérés, ce qui semble être responsable de l'initiation et de la progression de maladies chroniques telles que l'athérosclérose, le diabète ou l'hypertension (Oliveras-López et al., 2013). Spécifiquement, l'oxydation des LDL par le stress oxydant, qui jouent un rôle majeur dans l'initiation et la progression de la plaque d'athérosclérose (Siti et al., 2015)

1.2.4.3 Vieillesse et dysfonctionnement des HDL

Chez les personnes âgées, le taux plasmatique de HDL-C n'était pas différent en comparant aux personnes jeunes dans les deux études de Holzer et al. et de Berrougui et al. (Holzer et al., 2013, Berrougui et al., 2007). Cependant la comparaison de la composition en protéines et en lipides des HDL a montré une différence significative chez les personnes âgées par rapport aux personnes jeunes (Ahn & Kim, 2016). En ce qui concerne la composition lipidique, les personnes âgées avaient une teneur réduite en CL et total, une teneur élevée en sphingomyéline (Holzer et al., 2013) et une augmentation de la susceptibilité à la peroxydation lipidique (Berrougui et al., 2007). Ce changement dans les composants rigidifie la monocouche superficielle de HDL et donne naissance à une conformation moins stable de l'Apo A-I sur la surface des HDL (Hernández et al., 2014). Par conséquent, cette altération dans les lipides pourrait entraîner une diminution de la capacité des HDL à accepter les lipides oxydés et à inhiber l'oxydation des LDL (Camont et al., 2011).

D'autres études ont montré que les HDL des personnes âgées sont caractérisées par une réduction significative de l'activité de la PON 1 probablement due au remplacement de PON1 par une protéine inflammatoire de la phase aiguë (SAA : sérum amyloïde A), ce qui pourrait amener à une diminution de la fonction anti oxydante des HDL (Berrougui et al., 2007, Jaouad et al., 2006). De plus une réduction dans le taux d'Apo-E (Holzer et al., 2013), le taux d'Apo A-I et dans l'expression des ABCA1, entraînant une réduction de l'efflux de cholestérol via le transporteur ABCA1 (Berrougui et al., 2007).

Bien que l'effet direct de l'âge sur la fonctionnalité des HDL n'est pas encore bien étudié, l'altération dans la composition des HDL par le stress oxydatif soutient que l'altération de la fonctionnalité de HDL contribue significativement à l'accélération du processus athérosclérotique et l'incidence de ses manifestations cliniques chez les personnes âgées.

1.2.5 Alimentation

1.2.5.1 Le régime méditerranéen et les maladies cardiovasculaires

En termes de prévention, manger des fruits et des légumes, faire de l'exercice et éviter de fumer pourraient réduire d'environ 80% le risque relatif d'infarctus du myocarde (Yusuf et al., 2004). Un grand nombre de travaux ont indiqué que le régime alimentaire est l'un des déterminants modifiables les plus importants du risque cardiovasculaire (Brunner & Iso, 2008, Ordovas et al., 2007). Dans ce contexte, il a été montré que l'incidence des maladies coronariennes est très faible dans les pays méditerranéens (Rosamond et al., 2008, Tunstall-Pedoe et al., 1999). Cette différence était expliquée

souvent par le régime alimentaire méditerranéen qui est considéré bénéfique pour la santé cardiovasculaire (Urpi-Sarda et al., 2012). Le régime méditerranéen traditionnel se caractérise par une consommation élevée en huile d'olive, de fruits, de noix, de légumes et de céréales; une consommation modérée de poisson et de volaille; une faible consommation en produits laitiers, de viande rouge, de viandes transformées et de sucreries; avec une consommation modérée du vin durant les repas (Willett et al., 1995). L'effet bénéfique d'un régime méditerranéen a été confirmé par de nombreuses études épidémiologiques et d'intervention. Une récente méta-analyse qui inclut 26 études a montré que le régime méditerranéen permet de réduire le risque cardiovasculaire d'environ 20 à 25% (Rosato et al., 2019). De même, l'étude de « PREDIMED » (Primary Prevention of Cardiovascular Disease with Mediterranean Diet) dans laquelle ils ont montré que la diète méditerranéenne (DM) enrichie en huile d'olive extra vierge a permis de diminuer l'incidence de MCV chez 7 447 participants à haut risque cardiovasculaire après un suivi de cinq ans (Estruch et al., 2013).

Il est toutefois important de noter que le type des lipides dans un régime alimentaire a le principal effet sur le profil lipidique (Grundy & Denke, 1990, Mensink & Katan, 1992). Le régime méditerranéen, contrairement à tous les autres régimes alimentaires sains, est caractérisé par une teneur élevée en gras. Cela est dû à la consommation habituelle élevée d'huile d'olive, la principale source de gras du régime méditerranéen (Hu, 2003). Pour cela plusieurs études ont été réalisées visant à évaluer l'effet d'huile d'olive seul sur la santé cardiovasculaire. Ce nutriment peut avoir différents types dépendant de la méthode d'extraction utilisée.

1.2.5.2 Composition et types de l'huile d'olive ; Huile d'olive extra-vierge (EVOO)

La composition chimique de l'huile d'olive varie en fonction du mode d'extraction à partir du fruit (Gorzynik-Debicka et al., 2018). L'huile d'olive est principalement, composée de triacylglycérols (98–99%) qui sont un groupe diversifié d'esters de glycérol avec différents AG. L'AG prédominant dans l'huile d'olive est l'acide oléique mono-insaturé représentant 55 à 83% du total des AG (Covas et al., 2015). Il existe également des AG mineurs polyinsaturés et insaturés comme l'acide palmitique, l'acide linoléique, l'acide stéarique et l'acide palmitoléique (Ramírez-Tortosa et al., 2006).

Le reste de la composition de l'huile d'olive est constitué par plusieurs micronutriments, notamment des composés polyphénoliques (100-1 000 mg / kg), tels que l'hydroxytyrosol, le tyrosol et l'oleuropéine (Sirtori et al., 1992) et la vitamine E (Ramírez-Tortosa et al., 2006). La teneur des polyphénols dépend des facteurs agronomiques, de la maturité des olives, de la technologie d'extraction, ainsi que des processus de stockage ou de conditionnement (Bianco et al., 2002, Tuck

& Hayball, 2002). Selon la méthode d'extraction d'huile à partir du fruit d'olivier, on distingue trois types d'huile :

- **Huile d'olive extra-vierge (EVOO)** : elle est obtenue uniquement par des procédés mécaniques, commençant par la trituration des olives, puis la séparation de l'huile de la pulpe de fruit par pression mécanique à froid. L'huile d'olive obtenue selon ce type de procédure est généralement caractérisée par une intensité de couleur plus forte et un arôme plus faible (Gorzynik-Debicka et al., 2018). Son acidité libre exprimée en acide oléique est au maximum de 0,8 gramme pour 100 grammes (« Dénominations et définitions des huiles d'olive - International Olive Council »).
- **Huile d'olive vierge** : Comme l'EVOO, l'huile d'olive vierge n'a subi aucun traitement autre que le lavage, la décantation, la centrifugation ou la filtration. Cependant, elle a une qualité inférieure à la précédente (Covas et al., 2015). Son acidité libre exprimée en acide oléique est au maximum de 2 grammes pour 100 grammes (« Dénominations et définitions des huiles d'olive - International Olive Council »).
- **Huile d'olive courante** : Son acidité libre exprimée en acide oléique est au maximum de 3,3 gramme pour 100 grammes (« Dénominations et définitions des huiles d'olive - International Olive Council »).

Parmi les trois types d'huile dont nous avons parlé, l'EVOO est la plus riche en polyphénols (Kalogeropoulos & Tsimidou, 2014). Les études expérimentales ont montré que la consommation des huiles végétales riches en polyphénols et des AG mono-insaturés offrent une protection contre un éventail de maladies dont le cancer, l'athérosclérose et d'autres maladies du système nerveux central (Berrougui et al., 2015).

1.2.5.3 Effet de l'EVOO sur les maladies cardiovasculaires

Grâce à sa richesse en AG mono-insaturé et en composés bioactifs, particulièrement en polyphénols, l'EVOO a montré des effets bénéfiques sur la santé cardiovasculaire (Martín-Peláez et al., 2013). La consommation d'EVOO permet de diminuer les principaux facteurs de risque associé à l'athérosclérose en améliorant le profil des lipoprotéines, la pression artérielle, le métabolisme du glucose, le stress oxydatif et les profils thrombotiques (López-Miranda et al., 2010).

Particulièrement au niveau du profil des lipoprotéines, les études in vitro et in vivo chez l'homme et l'animal ont montré que l'EVOO permet d'augmenter le taux d'HDL-C, de diminuer les taux de LDL-C et de TG (Covas et al., 2006, Carluccio et al., 2007), de réduire le stress oxydatif et d'inhiber l'oxydation des lipoprotéines, rendant les ainsi les LDL moins athérogènes (Berrougui et al., 2006,

Covas et al., 2006). Concernant les HDL, plusieurs études ont évalué l'effet de la consommation d'EVOO sur les niveaux plasmatiques des HDL-C, mais ils ont conduit à des résultats controversés (Aguilera et al., 2004, Covas et al., 2006). L'étude EUROLIVE, un essai clinique multicentrique mené auprès de 200 personnes de cinq pays européens a montré que la supplémentation en huile d'olive (25 ml / jour) induit une augmentation du niveau de HDL-C. L'effet bénéfique de l'EVOO sur le niveau de HDL-C était corrélé de manière positive, dans cette étude, avec la concentration en produits phénoliques de l'huile d'olive consommée (Covas et al., 2006). À l'inverse, Anguilera et al. ont montré que la consommation de l'huile d'olive vierge pendant 4 mois n'a aucun effet sur le taux de HDL-C chez 10 hommes ayant une maladie vasculaire périphérique (Aguilera et al., 2004).

À part son effet sur les différents facteurs de risque des MCV, l'EVOO a montré des effets bénéfiques sur la fonction endothéliale. L'étude de Widmer et al. a rapporté que la supplémentation d'huile d'olive riche en polyphénols pendant quatre mois montre une amélioration significative de la fonction endothéliale des patients atteints de dysfonction endothéliale athérosclérotique précoce (Widmer et al., 2013). L'origine de cette amélioration est la réduction de l'inflammation vasculaire, notamment, une réduction des globules blancs, en particulier des monocytes et des neutrophiles, une diminution des marqueurs sériques de l'inflammation et une amélioration de la biodisponibilité du NO (Widmer et al., 2013, Cortés et al., 2006).

1.2.5.4 Effet de l'EVOO sur la composition et la structure des HDL

Les études qui ont ciblé la qualité des HDL ont montré qu'une supplémentation de l'EVOO ou de l'huile d'olive enrichie en polyphénols (HO-PP) améliore différentes propriétés des HDL liées à sa qualité, telle que leur composition chimique, l'activité des enzymes qui leur sont associées et la distribution de leurs différentes sous-classes (Fernández-Castillejo et al., 2017, Hernáez et al., 2017, 2014). L'essai clinique randomisé (ECR) de Pedret et al. a montré que la supplémentation de 25 ml/jour de HO-PP pendant 3 semaines induit une augmentation significative d'Apo A-I, Apo A-II, protéine totale, CT et de phospholipides par rapport aux valeurs initiales (Pedret et al., 2015). De même, la consommation de HO-PP a permis d'augmenter le niveau du CE par rapport au CL et par rapport aux phospholipides des HDL (Farràs et al., 2015). Aussi la consommation de HO-PP a permis d'augmenter la teneur des HDL en acide oléique (Solà et al., 1997). Cette amélioration dans la composition des HDL est associée à une conformation plus stable de l'Apo A-I et une augmentation dans la fluidité des HDL, qui est considérée comme un marqueur intermédiaire de la fonctionnalité des HDL (Hernáez et al., 2014).

De même l'étude de Hernáez et al. a montré que la supplémentation en HO-PP induit une augmentation du niveau HDL larges (HDL2) et une diminution du niveau de HDL petites (HDL3) (Hernáez et al., 2014). La supplémentation en HO-PP a un effet aussi sur les enzymes liées aux HDL. Farràs et al. ont montré une augmentation du taux plasmatique de LCAT, une enzyme qui a un rôle important dans la maturation des HDL (Farràs et al., 2015). Pour la CETP, son augmentation est caractéristique des patients à haut risque cardiovasculaire. Un large essai clinique de Hernáez et al. incluant 296 participants hypercholestérolémiques a montré une diminution de l'activité de la CETP après un an de consommation de DM enrichie avec l'EVOO (Hernáez et al., 2017). Ces résultats pourraient aider à expliquer la réduction de la teneur en TG dans les lipoprotéines HDL (Hernáez et al., 2017), vu que la CETP permet d'échanger le cholestérol des HDL contre les TG (VLDL/ LDL). Concernant la PON1, protéine associée exclusivement aux HDL et qui possède de nombreuses propriétés athéroprotectrices (Chistiakov et al., 2017), son activité est significativement augmentée chez les personnes jeunes en bonne santé supplémentées pendant en EVOO pendant 3 semaines (Cherki et al., 2005). De même, les travaux antérieurs de notre laboratoire ont montré que l'activité de la PON1 a augmenté après 12 semaines de supplémentation en EVOO chez des personnes jeunes et âgées en bonne santé (Loued et al., 2013).

1.2.5.5 Effet de l'EVOO sur la fonctionnalité des HDL

À part son effet sur la composition des HDL, la supplémentation de l'EVOO dans un régime méditerranéen a montré des effets bénéfiques sur quatre fonctions clés du HDL, la CEC, la fonction antioxydante, la fonction anti-inflammatoire et la fonction vasoprotectrice des HDL (Hernáez et al., 2017). Cependant l'effet de l'EVOO sur la fonctionnalité des HDL chez les personnes âgées en bonne santé n'a pas encore été étudié.

Dans notre projet, on s'intéresse particulièrement par l'effet de l'EVOO sur la CEC des HDL. Dans la littérature, cet effet a été étudié dans quatre études. La première est une étude pilote de notre laboratoire dans laquelle nous avons montré que la supplémentation de 25ml/jour en EVOO pendant 12 semaines améliore la CEC des HDL chez 26 personnes en bonne santé (Helal et al., 2013). La deuxième est un ECR de Hernáez et al qui était réalisée chez des hommes seulement. Ils ont montré une élévation de la CEC après une supplémentation de 25 ml/jour d'EVOO pendant 3 semaines (Hernáez et al., 2014). La troisième et la quatrième étude, deux ECR qui ont évalué l'effet d'une supplémentation en EVOO sur la CEC chez des personnes à risque élevées de MCV. Ils ont montré, de même, que la supplémentation 25ml/jours d'HO-PP pendant 3 mois au régime de base ou la consommation d'une DM enrichie avec 25 ml/jours d'EVOO pendant 12 mois, respectivement,

améliorent la CEC des HDL (Fernández-Castillejo et al., 2017; Hernáez et al., 2017). Cependant l'effet de l'EVOO sur la CEC chez les personnes âgées n'a pas encore été étudié.

En résumé, en plus de ses effets bénéfiques sur les facteurs de risques habituels ou traditionnels, la consommation de l'EVOO ou d'une DM enrichie avec l'EVOO a montré des effets bénéfiques sur la qualité ou la fonctionnalité des HDL.

1.3 Projet de recherche

Problématique

Les MCV se définissent par l'ensemble de troubles affectant le cœur et les vaisseaux sanguins. Elles posent un défi de taille comme problème de santé qui accompagne particulièrement les personnes âgées, chez lesquelles 27% des décès sont dus aux MCV. La cause la plus courante des MCV est l'athérosclérose, un processus vasculaire caractérisé par une inflammation et une accumulation des lipides dans la paroi artérielle menant à leur obstruction partielle ou totale.

En raison de leur caractère hydrophobe, les lipides sont transportés dans le sang sous forme des complexes protéiques appelés lipoprotéines. Ces derniers jouent un rôle fondamental dans le processus athérosclérotique, particulièrement les LDL qui sous leur forme oxydée représentent l'un des principaux déclencheurs biochimiques de la formation d'une plaque d'athérosclérose dans la paroi artérielle. À l'inverse, les HDL ont un rôle antiathérogène. Une faible concentration plasmatique du HDL-C est associée à un risque élevé des MCV dans les études cliniques et épidémiologiques. Sur la base de ces données, plusieurs interventions pharmacologiques ont été développées visant à baisser, premièrement, le niveau de LDL-C. Les statines sont les agents hypolipémiant les plus utilisées au niveau clinique. Cet agent a permis de réduire d'environ 30% le risque de survenue de complications cardiovasculaires d'origine athérosclérotiques. Cependant, les MCV constituent toujours l'une des premières causes de mortalité au Canada et dans le monde. De ce fait, d'autres interventions pharmacologiques ont été développées visant cette fois à augmenter le niveau des HDL-C. Toutefois, en dépit d'une augmentation d'environ 72 % du niveau de HDL, ces interventions ont mené à des résultats décevants en matière de protection contre les MCV et certaines études ont même rapporté un risque de mortalité accru à la suite de la prise de ses agents. Ces résultats ont mené à l'hypothèse stipulant que la fonctionnalité (ou qualité) des HDL plutôt que leur concentration serait le meilleur prédicteur du risque de MCV.

La fonctionnalité des HDL correspond aux différentes fonctions des HDL, principalement sa capacité à transporter le cholestérol des cellules périphériques vers le foie pour être éliminé via le TIC. Il n'existe jusqu'à présent aucune technique pour mesurer le TIC in vivo chez l'humain et la plupart

des études ont été réalisées chez des modèles animaux. Cependant, plusieurs études ont mesuré la CEC des HDL qui représente la première et l'étape limitante du processus de TIC. Les méthodes qui mesurent la CEC ont été utilisées avec succès dans des études cliniques, révélant des corrélations inverses entre la CEC et le risque cardiovasculaire

D'autre part, les HDL sont des particules extrêmement dynamiques qui subissent un remodelage et un recyclage constants. Cela résulte de la formation des différentes sous populations qui peuvent être classées selon leur taille en HDL-P, HDL-I et HDL-L. Cette variation dans les sous-populations de HDL entraîne une hétérogénéité dans leur fonction, et particulièrement dans leur CEC. Toutefois, des divergences existent dans la littérature concernant lesquelles des sous-classes des HDL qui présenteraient la meilleure fonction athéroprotectrice. Actuellement, les études suggèrent que l'évaluation de la fonctionnalité (ou la qualité) des HDL pourrait être la méthode adéquate pour prévenir le risque des MCV. Les deux paramètres les plus étudiés pour évaluer la fonctionnalité des HDL sont la CEC et la distribution des sous-classes de HDL.

Plusieurs études ont ciblé la nutrition comme un moyen pour minimiser le risque cardiovasculaire, particulièrement le régime alimentaire méditerranéen qui a montré ces effets bénéfiques sur la santé cardiovasculaire. Parmi ces composants, l'EVOO qui représente la principale source de graisse de ce régime. Grâce à sa richesse en AG mono-insaturée et en polyphénols, l'EVOO a montré des effets bénéfiques sur certains facteurs de risque des MCV. Plus récemment, deux études ont montré que la consommation de l'EVOO améliore la CEC chez les personnes jeunes et les personnes avec un risque cardiovasculaire élevé (Fernández-Castillejo et al. 2017; Hernáez et al., 2017, 2014), mais cet effet n'est pas encore déterminé chez les personnes âgées en bonne santé, quoique l'âge représente un facteur de risque très important pour les MCV.

Hypothèses

En s'appuyant sur les études antérieures, nous avançons l'hypothèse que la fonctionnalité des HDL pourrait s'altérer au cours du vieillissement et que la supplémentation en EVOO permettrait d'améliorer la fonctionnalité des HDL. Notre hypothèse de recherche stipule aussi qu'il existerait une association entre la CEC et la taille des HDL.

Objectifs

À la lumière de la recension des écrits découlent plusieurs objectifs de cette recherche.

Objectif primaire :

Déterminer l'effet de la supplémentation en EVOO sur la fonctionnalité des HDL et sur la distribution de leurs différentes sous-classes, chez des personnes jeunes et âgées en bonne santé.

Objectifs secondaires :

- 1- Déterminer le niveau d'altération de la fonctionnalité des HDL au cours du vieillissement.
- 2- Déterminer le lien entre la capacité des HDL à transporter le cholestérol et la distribution des différentes sous-classes de HDL.

2 DEUXIÈME CHAPITRE : MATÉRIELS ET MÉTHODES

Le projet fait partie de l'étude LipAge (lipides-âge) menée par notre laboratoire de recherche depuis 2008 et se poursuit jusqu'à présent. L'objectif de LipAge est d'étudier les biomarqueurs sanguins associés au risque de développement de l'athérosclérose au cours du vieillissement et leur modulation suite à une supplémentation de 12 semaines en EVOO. Pour ce projet, nous avons utilisé les données biochimiques et sociodémographiques ainsi que les échantillons biologiques (plasma) qui ont été colligés pour LipAge.

2.1 Dispositif de recherche

LipAge est une étude de type quasi expérimentale. Un devis avant-après avec deux groupes de participants non équivalents a été adopté pour cette étude. Le groupe témoin a été représenté par le groupe expérimental avant l'intervention appelé dans ce cas groupe témoin réflexif qui permet de déterminer les changements survenus entre la période antérieure à l'intervention et celle qui lui est postérieure pour chaque participant. Ce devis peut amener à plus de dispersion dans les résultats dû à l'absence de la randomisation. Cependant, il a plusieurs avantages qui permettent de le présenter comme un modèle raisonnable valide et concluant. Prenant comme exemple, ce devis est peu coûteux, rapide et connu par le taux élevé de participation.

2.2 Population

La population à l'étude comprend toutes les personnes en bonne santé, répartis selon leurs âges en deux groupes, un groupe des jeunes (18 et 45 ans) et un groupe des âgées (65 et 85 ans). Les participants doivent respecter des critères d'inclusion et d'exclusion bien précis.

2.3 Critères d'admissibilité

Les critères d'admissibilités sont résumés dans le tableau 3. Les hommes et les femmes âgées entre 18 à 45 ans ou 65 à 85 ans ont été inclus dans l'étude. Les participants doivent être en bonne santé, exempts de toutes manifestations cliniques et physiques d'athérosclérose, normolipidiques, et avec une anamnèse clinique et familiale négative. Aussi, ils devaient avoir un électrocardiogramme (ECG) normal, une TA plus basse que 135/80 et un IMC entre 23 et 28 kg/m². Les fumeurs et les personnes qui prennent des multivitamines, des antioxydants, un remplacement hormonal ou toute médication qui pourrait affecter le profil lipidique, ont été exclus de l'étude.

Tableau 3 : Critères d'inclusion et d'exclusion

Critères d'inclusion:	Critères d'exclusion:
✓ Hommes et femmes en bonne santé;	× Le tabagisme;
✓ Groupe des jeunes de 18 à 45 ans et groupe des âgées de 65 à 85 ans;	× La prise des antioxydants, des multi vitamines ou de médication qui affecte le profil lipidique;
✓ Normo-lipidiques et exempts de toutes manifestations cliniques et physiques d'athérosclérose;	× La prise des hormones de remplacement ou des anovulants depuis moins d'un an.
✓ Anamnèse clinique et familiale négative;	
✓ Un ECG normal;	
✓ TA plus basse que 135/80 ;	
✓ IMC entre 23 et 28 kg/m ² .	

2.4 Échantillonnage

Dans la présente étude, une méthode d'échantillonnage non probabiliste de convenance a été effectuée dans le but de cibler facilement les participants les plus susceptibles d'être représentatifs de la population cible. Cette méthode permet d'avoir un échantillon avec des critères d'inclusion précis, ainsi que le taux élevé de participation liée au devis choisi diminue le biais de volontariat.

2.5 Recrutement

Le recrutement a été fait par des affiches publicitaires (Figure 5) à différents endroits de Sherbrooke et notamment aux entrées du centre de recherche sur le vieillissement de Sherbrooke (CDRV), au centre hospitalier universitaire de Sherbrooke (CHUS), aux centres d'hébergement et dans les centres commerciaux.



Centre de recherche
sur le vieillissement

Le Centre de recherche sur le vieillissement mène une étude sur **l'effet bénéfique de l'huile d'olive** sur le niveau de cholestérol et sur les maladies cardiovasculaires.

- **De l'huile d'olive (pour consommation) vous sera fournie gratuitement pendant toute la durée de l'étude (3 mois).**
- **Votre niveau de cholestérol sera mesuré lors de votre première visite et 3 mois après (votre dernière visite).**

Les personnes (hommes ou femmes) intéressées doivent être âgées de *18 à 45 ans ou de 65 ans et plus*, être sans médication et non-fumeuses.

Inscrivez-vous dès aujourd'hui !

Téléphonez au 819 829-7131, poste 45131 (Lucie Duquette)

Figure 5 : Affiche publicitaire utilisée dans le recrutement des participants.

Ces affiches contenaient les informations nécessaires sur l'étude. Les gens intéressés à participer à l'étude ont été invités pour contacter un responsable du projet de recherche par courriel ou par téléphone. Lors de ce contact, les critères d'admissibilité de base ont été vérifiés et s'ils satisfont les critères de base, alors un rendez-vous a été donné aux potentiels participants.

2.6 Déroutement de l'étude

L'étude proposée a été déroulée sur 12 semaines (à long terme) (Figure 6). Durant la première rencontre, les participants potentiels ont été invités à une visite de recrutement au CDRV afin de valider qu'ils répondent à tous les critères de sélection, par l'admission d'un court questionnaire sur leur état de santé et leurs habitudes de vie, ainsi que pour l'obtention de leur consentement libre et éclairé par écrit.

Une fois recrutés, les participants qui ont répondu à nos critères des sélections ont été invités à revenir le jour suivant, T0, après un jeûne de 12 heures au CDRV pour une prise de sang et pour la mesure du poids et de la TA. La quantité d'EVOO nécessaire pour le premier mois (1 000 ml) ainsi qu'une mesurette graduée pour le dosage de l'huile leur ont été fournis lors de la visite à T0.

Les participants ont été invités à prendre 25 ml/jour d'EVOO à l'état cru divisé sur les 3 repas de la journée. La compliance à l'intervention a été vérifiée par téléphone toutes les deux semaines, ainsi que par une rencontre au CDRV à la quatrième et huitième semaine (T4, T8) durant laquelle une analyse urinaire du tyrosol et du hydrotyrosol, deux produits de dégradation des principaux phénols contenus dans l'huile d'olive (Owen et al., 2000), a été faite. Lors de chacune de ces rencontres (T4, T8), les participants ont eu la quantité d'EVOO suffisante pour le mois suivant.

Après 12 semaines de supplémentation en EVOO (T12), les participants ont été invité à revenir au CDRV pour la collecte finale de donnée qui correspond à la deuxième prise de sang, la mesure du poids et de la TA.

Etant donné que la collecte des données a été réaliser en 2008. Les plasmas des patients ont été congelé à -80°C dans des tubes Eppendorf de 1 ml de volume. Le choix d'une température basse et d'un petit volume est préférable pour minimiser l'effet de la congélation sur les propriétés des HDL (David Curb et al., 1980).

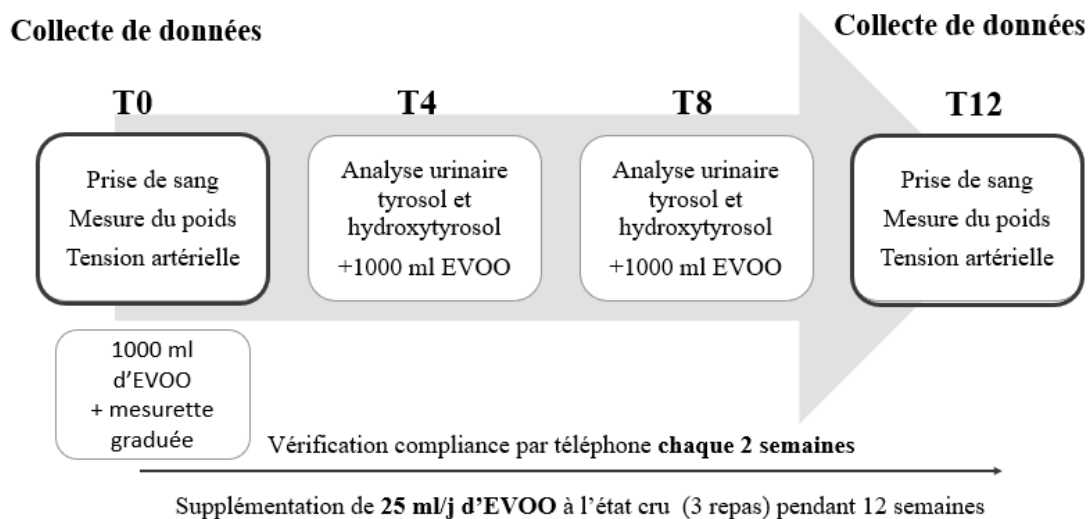


Figure 6 : Déroulement de l'étude.

La collecte de données était réalisée au début de l'étude à T0 et après une intervention de 12 semaines (T12). Durant cette période une supplémentation de 25 ml/j d'EVOO à l'état cru a été demandée des participants pendant 12 semaines. La compliance était vérifiée par téléphone toutes les deux semaines, ainsi que par une rencontre dans le CDRV à T4 et T8. La quantité d'huile nécessaire a été donnée au début de chaque mois.

2.7 Variables de l'étude

2.7.1 *Variable indépendante*

Cette étude d'intervention consiste à la supplémentation en EVOO chez deux groupes de sujets, jeunes et âgés. L'huile d'olive utilisée dans l'étude provenant de la même plantation au Maroc afin d'utiliser une huile de la même qualité et la même composition, avec la certification extra-vierge. Nos participants ont été invités à enrichir leur diète habituelle avec 25 mL/jour (l'équivalent de deux cuillères à soupe) en EVOO pendant une période de 12 semaines, correspondant à la catégorie d'interventions à long terme (Hohmann et al., 2015). Cette quantité d'huile d'olive est recommandée par l'Agence américaine des produits alimentaires et médicamenteux (FDA : *food and drug administration*) (FDA, 2004) et elle se rapproche de la quantité d'huile consommée dans le régime méditerranéen. Cette quantité n'a aucun effet ni sur la lipidémie postprandiale ni sur l'augmentation des marqueurs de stress oxydatif in vivo (Weinbrenner et al., 2004). L'EVOO devait être consommée à l'état cru et distribué sur les trois repas de la journée.

2.7.2 *Variables dépendantes et instrument de mesure*

2.7.2.1 *Variable dépendante principale*

La variable dépendante principale de ce projet est la CEC des HDL. Cette variable était choisie pour évaluer la fonctionnalité des HDL, vu qu'elle représente l'étape clé de la majeure fonction des HDL, le TIC. Comme déjà vu, la CEC est définie par le mouvement du cholestérol des cellules périphériques vers les accepteurs extracellulaires des HDL. Les méthodes qui mesurent la CEC ont été utilisées avec succès dans des études cliniques, révélant des corrélations inverses entre la CEC et le risque cardiovasculaire (Rohatgi et al., 2014, Anastasius et al., 2016).

La mesure de la CEC consiste d'abord en la séparation des HDL du plasma des personnes jeunes et âgées, à T0 et à T12, puis ces HDL sont incubées avec les macrophages THP1 pour la mesure du CEC (Figure 6).

Séparation des HDL :

Dans notre projet, la séparation des HDL était réalisée par une méthode de précipitation en utilisant le polyéthylène glycol (PEG). Cette méthode permet d'obtenir un sérum appauvri en Apo B, représentant l'accepteur du cholestérol utilisé dans la grande majorité d'études portant sur la mesure de la CEC (Anastasius et al., 2016).

Après avoir décongelé les échantillons (plasma), la première étape de la méthode de précipitation consiste à mélanger le plasma et de la solution PEG volume à volume pendant 20 min à température ambiante. Ensuite, le mélange déjà incubé est centrifugé pendant 15 min à $2\,300 \times g$. Cette technique permet d'obtenir les HDL dans le surnageant et un culot formé des autres lipoprotéines. La solution de PEG était préparée en utilisant 1,84 g de glycérine ou de glycérol dans 100 ml d'eau désionisée à pH = 10, puis 20 g de PEG était ajouté à la solution.

Cette méthode de PEG présente l'avantage d'être très rapide, peu coûteuse et nécessite un faible volume de plasma (Widhalm & Pakosta, 1991). De plus, elle permet de conserver dans le surnageant toutes les sous-classes d'HDL contrairement à l'ultracentrifugation qui permet d'obtenir seules les HDL dont la densité est comprise entre 1,063 à 1,210 g/ml, excluant ainsi les pré- β HDL (densité de 1,210 à 1,250 g/ml) (Fernández-Castillejo et al., 2017.).

La CEC des HDL est mesurée en utilisant le modèle cellulaire THP1 transformées en macrophages et radiomarquées avec le cholestérol tritié (^3H -cholestérol). Les HDL de chaque patient ont été incubés avec les THP1 chargés en ^3H -cholestérol pour étudier la capacité de ces HDL à extraire le cholestérol des macrophages.

Jusqu'à aujourd'hui, différents protocoles ont été développés pour la mesure de la CEC utilisant différents types de cellules et d'accepteur de cholestérol. Ces protocoles mesurent tous le mouvement du cholestérol marqué des cellules vers un accepteur extracellulaire (Rothblat et al., 2002). Le choix de la méthode utilisée dans la présente étude était basé sur un compromis entre des caractéristiques métrologiques. La mesure de la CEC nécessite 3 composants (Figure 7) :

- I. Dans notre projet les cellules choisies sont les monocytes THP-1 différenciés en macrophage. Les THP-1 est une lignée cellulaire de leucémie monocyttaire humaine qui a été établie en 1980 par Tsuchiya et al. (Tsuchiya et al., 1980). Les cellules THP-1 permettent d'étudier différentes voies de l'efflux du cholestérol contrairement aux autres modèles cellulaires utilisés dans les études précédentes pour évaluer la CEC. Prenant l'exemple des macrophages J774 qui ont une faible expression des SR-BI (Ji et al., 1997) et sans stimulation par l'adénosine monophosphate cyclique (AMPC), ils expriment moins des récepteurs membranaires d'ABCA1 que les cellules THP-1 (Bortnick et al., 2000, Berrougui et al., 2007). Pour cela les J774 ne représentent pas un modèle adéquat pour étudier les HDL entières vu qu'elles n'interagissent pas avec la sous-fraction des HDL-L (Shao et al., 2010, (N. Wang, Silver, Costet, & Tall, 2000). Un autre modèle, les cellules Fu5AH qui expriment

les SR-B1 à des niveaux élevés et elles manquent des ABCA1 fonctionnels (Bortnick et al., 2000).

Malgré cette différence dans le choix des cellules, tous les modèles étudiés ont été des macrophages ou des monocytes différenciés en macrophages. La raison de ce choix est que les macrophages sont les cellules les plus appropriées pour l'étude de l'athérosclérose, vu que ces cellules se transforment en cellules spumeuses après l'accumulation du cholestérol ce qui favorise la formation des plaques d'athéroscléroses (G. H. Rothblat et al., 2002).

- II. Le tritium (^3H) est le radio-isotope utilisé dans ce travail pour marquer le cholestérol. Ce radio-isotope est utilisé fréquemment dans les processus biologiques puisqu'il représente un bon indicateur des activités nucléaires.
- III. L'accepteur de notre projet est le sérum appauvri en Apo-B qui contient toutes les fractions des HDL. Ce choix permet d'évaluer la CEC par l'ensemble des sous-classes de HDL. À savoir, le choix de l'accepteur de cholestérol peut avoir un impact très important sur l'évaluation de la CEC et constitue en la source de variation la plus importante d'une étude à l'autre (Rohatgi, 2015).

Les monocytes THP-1 (provenaient de l'American Type Culture Collection) ont été cultivés dans le milieu RPMI 1640 (supplémenté avec 10% de sérum de veau foetal inactivé par la chaleur -SVF-, 2mM de L-glutamine, 1.5ml/ml de glucose et 100 U/ml de pénicilline-streptomycine). Le milieu de culture a été rafraîchi toutes les 72 h. Les monocytes THP-1 ont été différenciés en macrophages en incubant les cellules en présence de 100 nM de phosbol-myristate-acétate (PMA) (Sigma) pendant 96 h.

Par la suite, les macrophages THP1 ont été incubés avec 1 μCi / mL de ^3H -cholestérol pendant 24h, puis lavés 3 fois avec le Phosphate-buffered saline (PBS) avant leur incubation pendant 24 heures dans du milieu RPMI 1640 frais (supplémenté avec 1% de bovine serum albumin -BSA-, Sigma). Les macrophages THP1 chargées en ^3H -cholestérol ont été lavés encore une fois par le PBS et mis en culture pendant 24 h dans du milieu RPMI 1640 frais + 1% de BSA en l'absence (contrôles) ou en présence de 5% de sérum appauvri en Apo B des patients. Par la suite, le surnageant de chaque puits a été extrait et les macrophages ont été récupérés puis lysées par une incubation de 60 minutes avec une solution d'hydroxyde de sodium (NaOH) à -20 degrés. La radioactivité dans le surnageant et le lysat cellulaire a été comptée à l'aide d'un compteur à scintillation LS 6500 (Beckman). Le pourcentage de la CEC des HDL était calculé à l'aide de la formule suivante pour chaque puits : (radioactivité dans le surnageant / radioactivités dans le surnageant + radioactivité dans le lysat

cellulaire) x 100. La valeur de la CEC pour chaque patient correspondant à celle calculée en présence de HDL de ce patient moins celle calculée pour le contrôle (sans HDL).

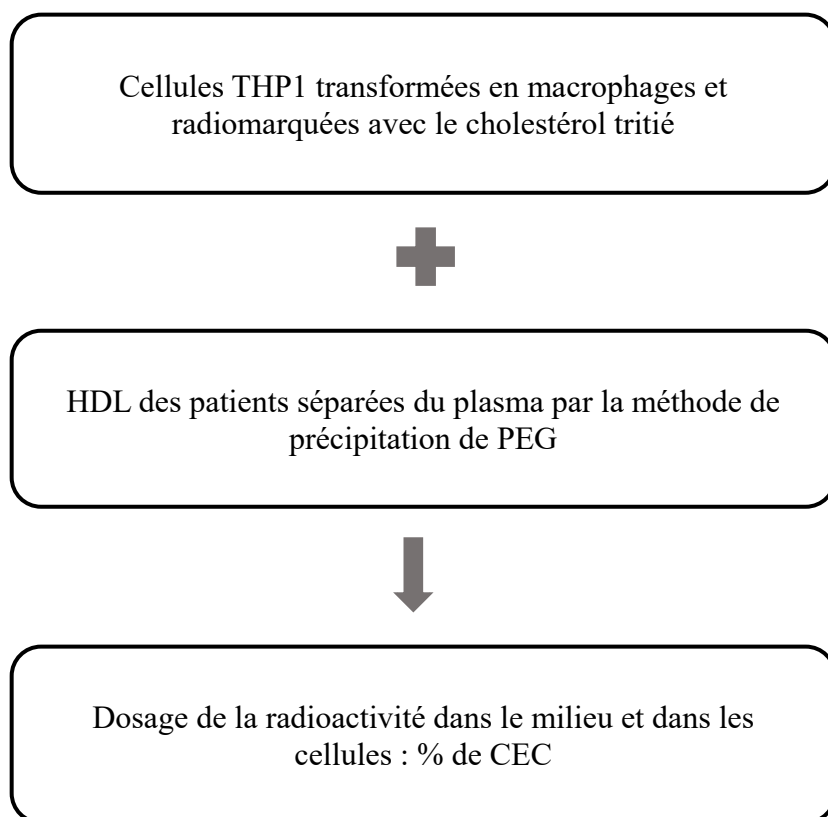


Figure 7 : Les étapes du dosage de la CEC des HDL.

La CEC a été déterminée in vitro à l'aide du modèle cellulaire THP-1. Après être différencié en macrophages ces cellules ont été enrichies avec du cholestérol radiomarké. Parallèlement, les HDL de chaque patient ont été séparés du plasma par la méthode de précipitation de PEG qui permet d'obtenir un sérum appauvri en Apo B, contient les différentes fractions des HDL. Par la suite, la radioactivité a été déterminée dans le milieu de culture et dans les cellules pour avoir un pourcentage de CEC pour chaque patient. Ce dosage a été réalisé pour chaque patient à T0 et à T12.

2.7.2.2 Variables dépendantes secondaires

- Distribution des différentes sous-classes des HDL

La distribution des différentes sous-classes des HDL était déterminée par le Système Lipoprint Quantimetrix. Ce système a l'avantage d'identifier jusqu'à dix différentes sous-classes de HDL en fonction de leurs tailles (HDL-1 à HDL-10) et permet aussi de les classer en HDL larges (HDL-1 à 3), HDL intermédiaire (HDL-4 à 7) et en HDL petite (HDL-8 à 10) (Figure 8). Le système Lipoprint Quantimetrix consiste à une chambre d'électrophorèse, une lampe de polymérisation, un scanner digital et un logiciel d'analyse. Les analyses sont réalisées avec kit formé de gels polyacrylamide en tubes et de tampon de migration. La réalisation du test se déroule sur plusieurs étapes :

Après avoir décongelé les échantillons (plasma), la première étape consiste à ajouter aux gels, 25 µL de plasma et pour faciliter la visualisation de la migration, on ajoute 300 µL d'un traceur de migration. Ces gels en tubes sont ensuite photopolymérisés pendant 30 minutes avec la lampe de polymérisation. Une fois la polymérisation est terminée, nous plaçons les tubes à l'électrophorèse pendant 50 minutes. Lors de cette étape, les lipoprotéines vont être séparées. Les particules les plus denses comme les HDL de petites tailles et l'albumine migrent vers le bas et les particules les plus légères comme les VLDL, les LDL et les HDL de grandes tailles flottent et migrent vers le haut des tubes. À la fin de l'électrophorèse, les tubes auront un aspect raillé et chaque bande correspond donc à une différente classe de lipoprotéines. Finalement, la dernière étape consiste à scanner les tubes avec un scanner qui est spécialement conçu pour contenir les tubes.

Pour chaque tube, le logiciel Lipoprint détermine automatiquement la quantité de cholestérol et le pourcentage de distribution de chaque sous-classe de HDL en utilisant à la fois, le scan ou l'image du tube qui apparaît sur l'écran de l'ordinateur et la valeur de concentration plasmatique de cholestérol HDL (HDL-C) de l'échantillon correspondant.

Le système Lipoprint est un test valide qui a été approuvé par le FDA (Jennifer Morais, 2005). Ce test présente de très bonnes qualités métrologiques du fait qu'il est précis et fidèle. Sa fidélité test retest, intra et inter observateur a été démontrée (Hoefner et al., 2001). De plus, la réalisation du test est rapide et permet d'analyser douze échantillons à la fois en moins de trois heures.

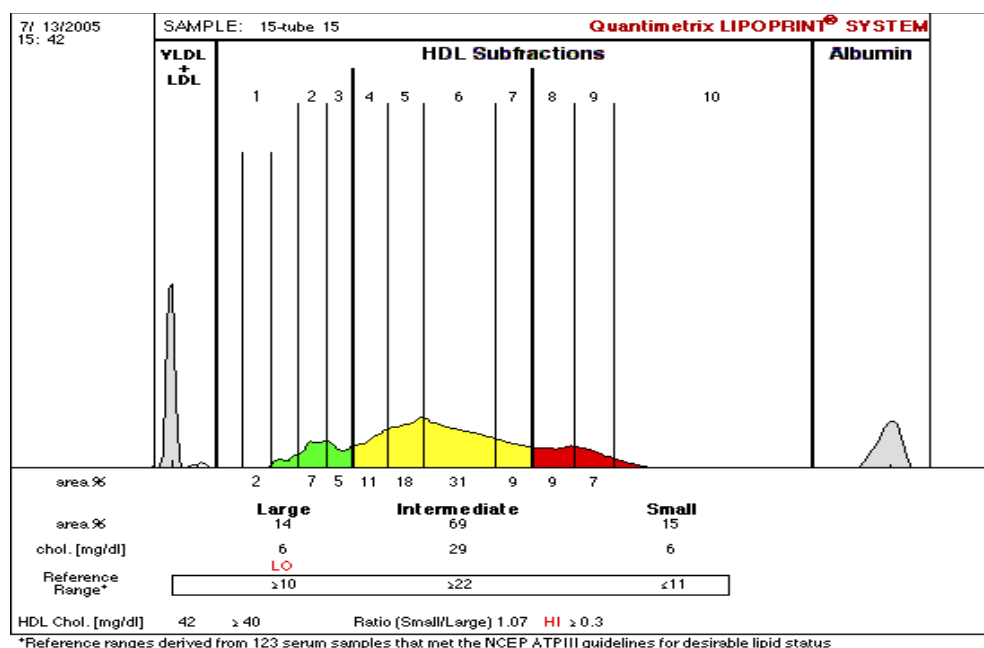


Figure 8 : Exemple du résultat final du test Lipoprint pour la distribution des HDL pour un participant.

Pour chaque participant le logiciel Lipoprint détermine la concentration du cholestérol en mg/dl et le pourcentage (%) de distribution de chacune des 10 différentes sous-classes. Les HDL larges (HDL 1 à 3) sont représentées en vert, les HDL intermédiaires (HDL 4 à 7) sont représentées en jaune et les HDL petites (HDL 8 à 10) sont représentées en rouge.

- Les autres variables

À part la mesure de la CEC et la distribution des différentes sous-classes des HDL, d'autres variables ont été mesurées, à T0 et à T12, parmi lesquelles l'indice de masse corporelle (IMC), la tension artérielle systolique (TA systolique), la tension artérielle diastolique (TA diastolique) et le taux de glucose sanguin (glycémie). De plus, le profil lipidique des patients a été évalué par la mesure de la concentration plasmatique du cholestérol total (CT), le taux des triglycérides (TG), du cholestérol HDL (HDL-C), du cholestérol LDL (LDL-C) et le ratio CT/HDL-C. Toutes ces variables ont été déterminées dans les laboratoires d'analyses cliniques du CHUS selon des protocoles bien standardisés.

2.8 Taille d'échantillon

Dans l'étude LipAge 240 participants ont été recrutés, 120 dans le groupe des jeunes et 120 dans le groupe des âgés. Dans le présent projet, qui est une étude secondaire de LipAge, la taille d'échantillon nécessaire a été calculée en se basant sur l'issue primaire (l'effet de l'EVOO sur la CEC des HDL) qui est une variable continue, dans deux groupes indépendants. Le calcul a été effectué, dans le cadre d'un test bilatéral, en prenant un seuil de signification à 5%, une puissance de 80%, une différence entre les groupes de 0.025 U et un écart-type de 0.084 U (Hernández et al., 2014). La taille d'échantillon nécessaire pour répondre à la question de recherche était 84 personnes jeunes et âgées. Cependant les groupes n'étaient pas égaux puisque la mesure de la distribution des HDL devait se faire sur du plasma non traité avec l'héparine comme anticoagulant, nous n'avons pu faire nos analyses que pour $n=27$ participants dans le groupe de jeunes et pour $n=57$ participants dans le groupe des personnes âgées.

Pour les deux autres objectifs, la puissance a été mesurée en postériori. Avec 27 participants dans le groupe des jeunes et 57 dans le groupe des âgés, on a gardé une puissance de 66% et de 85% pour le premier et le deuxième objectif secondaires respectivement.

2.9 Analyses statistiques

Pour décrire notre échantillon, les variables continues ont été exprimées en moyenne et écart type et pour les variables nominales en pourcentage. La normalité des données a été vérifiée statistiquement à l'aide du test Shapiro Wilks et graphiquement à l'aide d'histogrammes. Ainsi, pour comparer les données sociodémographiques et pour déterminer l'effet de l'âge entre les deux groupes (premier objectif secondaire), le test de Mann Whitney a été utilisé pour comparer les variables continues (âge, les paramètres du profil lipidique, IMC, TA, glycémie), le test exact de Fisher a été utilisé pour le sexe. Le seuil de valeur P pour la signification statistique a été fixé à 0,05.

En ce qui concerne notre premier objectif qui consiste à déterminer l'effet de la supplémentation en EVOO sur la fonctionnalité des HDL, nous avons utilisé le test des rangs signés de Wilcoxon dans le groupe des jeunes ($n=27$) et le test t dans le groupe des âgés ($n=57$) pour faire les comparaisons intra groupes (avant-après).

Pour notre deuxième objectif secondaire, nous avons étudié l'association entre la CEC et la distribution des HDL, en utilisant la corrélation de Pearson. Afin d'observer statistiquement l'effet des variables susceptibles d'être confondantes (sexe, âge, les paramètres du profil lipidique, TA,

IMC, glycémie) sur cette corrélation nous avons utilisé des analyses multivariées, notamment la régression linéaire multiple.

2.10 Considérations éthiques

L'étude LipAge a été approuvée par le comité d'éthique du centre de recherche du CHUS en 2008. Un renouvellement annuel de l'approbation est mis à jour à chaque année incluant notre question de recherche. Tous les participants ont accepté volontairement de participer à l'étude et ont signé le formulaire de consentement. En tout temps, les participants pouvaient interrompre leur participation à l'étude sans aucun inconvénient. De plus, la confidentialité et la sécurité des données ont été respectées lors de la collecte initiale en utilisant des codes de sécurité pour éviter le vol des données et ainsi le bris dans la confidentialité promise aux participants. Finalement, notre intervention est à risque minimal puisque aucune étude n'a rapporté des effets indésirables ou secondaires en lien avec la consommation de l'EVOO. La quantité d'huile d'olive administrée est recommandée par le FDA et n'a aucun effet ni sur la lipidémie postprandiale ni sur l'augmentation des marqueurs de stress oxydatif.

3 TROISIÈME CHAPITRE : RÉSULTATS

Dans ce chapitre nous présenterons les résultats obtenus avant l'intervention (T0) et après une période de 12 semaines (T12) de supplémentation en EVOO (25ml/j). En premier temps, nous exposons les caractéristiques des participants puis nous présentons le reste des résultats regroupés en trois blocs, correspondant à chacun de nos trois objectifs de recherche.

3.1 Caractéristiques des groupes à l'étude

- Description de l'ensemble des participants

L'échantillon à l'étude comprenait 84 participants en bonne santé regroupés selon leur âge en jeunes ($n = 27$) et âgés ($n = 57$). Les données sociodémographiques, biochimiques et anthropométriques sont présentées dans le tableau 4. La moyenne d'âge de l'ensemble de nos participants est $58,21 \text{ ans} \pm 19,22 \text{ ans}$ dont 41% des participants étaient de sexe masculin. L'IMC, la TA systolique et la TA diastolique, le profil lipidique (CT, TG, LDL-C, HDL-C et CT/HDL-C) et la glycémie sont dans les valeurs physiologiques normales. Cela est en concordance avec nos critères de sélection ciblant spécifiquement les personnes en bonne santé.

- Description des participants dans chaque groupe

Les participants ont été regroupés en deux groupes, personnes jeunes ($n = 27$, âge moyen est $31,8 \pm 6,79 \text{ ans}$) et personnes âgées ($n = 57$, âge moyen $70,72 \pm 5,6 \text{ ans}$). La proportion des hommes était de 55,6 % dans le groupe de jeunes et 35,1 % dans le groupe âgé, cette différence n'est pas statistiquement significative ($p = 0,07$). Bien que l'IMC, la TA systolique, la TA diastolique, les paramètres du profil lipidique (CT, TG, LDL-C, HDL-C et CT/HDL-C) et la glycémie étaient dans les valeurs physiologiques normales, les personnes âgées avaient un IMC, une TA systolique et une TA diastolique, le CT, les TG, le LDL-C et la glycémie significativement plus élevés comparativement aux personnes jeunes ($p < 0,05$). Cependant, nous avons noté une absence de différence significative pour le niveau de HDL-C et du rapport CT/HDL-C entre les personnes jeunes et âgées ($p = 0,289$ et $p = 0,113$ respectivement) (Tableau 4).

Tableau 4 : Données anthropométriques et biochimiques des participants lors du recrutement (à l'état basal ou T0)

	Total (n=84)	Jeunes (n=27)	Âgés (n=57)	
	Moyenne ± ET	Moyenne ± ET	Moyenne ± ET	P
<u>Caractéristiques</u>				
Âge (années)	58,21 ± 19,22	31,81 ± 6,79	70,72 ± 5,6	<0,001
Sexe : hommes (%)	41,7	55,6	35,1	0,07
IMC	25,83 ± 4,24	24,37 ± 3,16	26,51 ± 4,53	0,033
TA systolique	127,32 ± 18,48	113,56 ± 8,43	133,72 ± 18,42	<0,001
TA diastolique	77,37 ± 9,55	70,52 ± 7,84	80,54 ± 8,6	<0,001
<u>Profil lipidique</u>				
CT (mmol/l)	5,23 ± 0,99	4,63 ± 0,95	5,52 ± 0,88	<0,001
TG (mmol/l)	1,31 ± 0,83	1,19 ± 0,99	1,37 ± 0,74	0,032
HDL-C (mmol/l)	1,46 ± 0,38	1,38 ± 0,33	1,5 ± 0,4	0,289
LDL-C (mmol/l)	3,16 ± 0,83	2,7 ± 0,76	3,4 ± 0,78	<0,001
CT/HDL-C	3,81 ± 1,25	3,62 ± 1,4	3,92 ± 1,16	0,113
Glucose (mmol/l)	4,56 ± 0,57	4,18 ± 0,46	4,73 ± 0,56	<0,001

ET : Écart type, IMC : Indice de masse corporelle, TA: Tension artérielle, CT : Cholestérol total, TG : Triglycérides, LDL-C : Cholestérol LDL, HDL-C : Cholestérol HDL, P : différence entre le groupe des jeunes et le groupes des âgés. Test de Mann Whitney, $\alpha = 0,05$.

3.2 L'effet de l'âge sur la fonctionnalité des HDL

3.2.1 *L'effet de l'âge sur la CEC des HDL*

À titre de rappel, la variable principale de notre projet est la CEC des HDL, qui représente la capacité des HDL à transporter le cholestérol à partir des macrophages (Berrougui et al., 2007). Le modèle de culture cellulaire utilisé dans notre projet permet de mesurer la capacité des HDL de chaque patient à transporter le cholestérol à partir des macrophages THP-1 via les différentes voies. Pour chaque patient nous avons déterminé un pourcentage de CEC. Cette dernière a été utilisée pour déterminer le niveau de fonctionnalité des HDL.

La figure 9 présente les valeurs du CEC des HDL pour chacun des groupes (jeune et âgé) à l'état basal (T0). Nos résultats montrent que le CEC est significativement plus élevé chez le groupe jeune en comparaison à celui chez le groupe des âgés (50,51% et 45,70% respectivement, $p < 0,001$ dans les deux cas) (Figure 9).

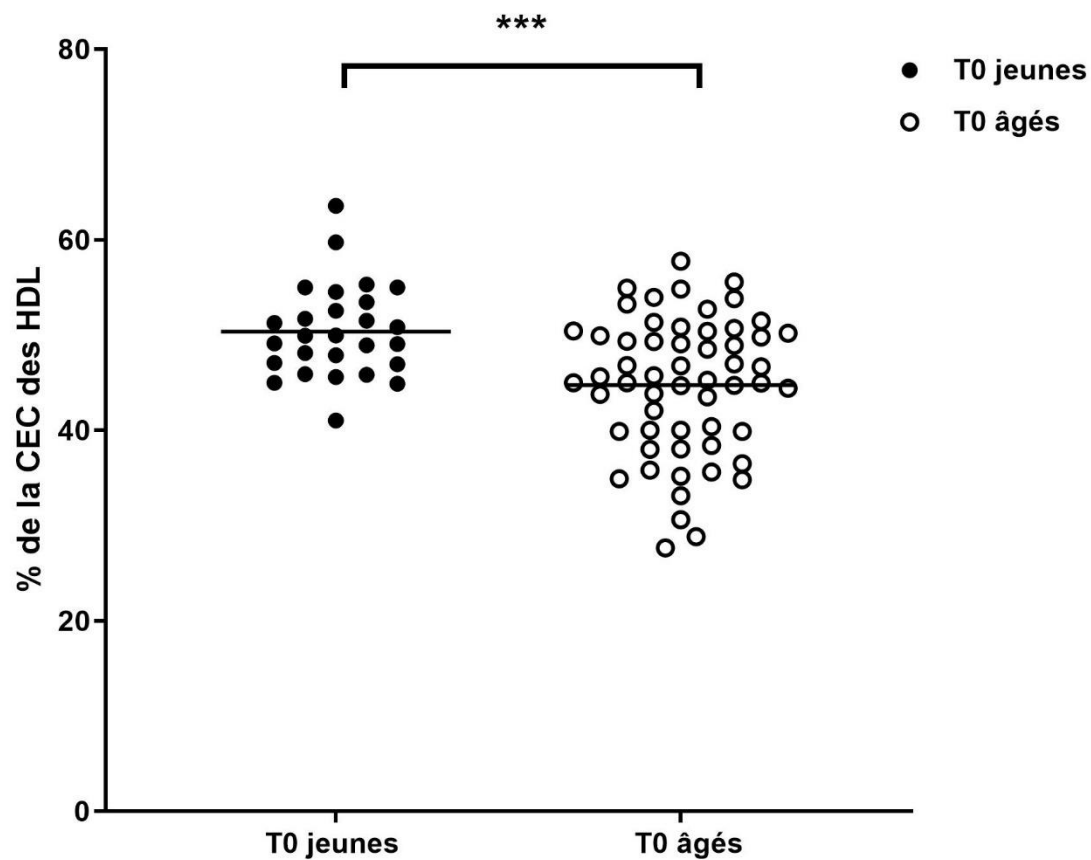


Figure 9 : La CEC des HDL dans le groupe jeune et dans le groupe âgé à T0.

CEC : Capacité de l'efflux du cholestérol, T0 : avant l'intervention (à l'état basale)

Test Mann Whitney, $\alpha = 0,05$

***: $p < 0,001$

3.2.2 L'effet de l'âge sur la distribution des différentes sous-classes de HDL

La distribution des différentes sous-classes de HDL était déterminée dans notre projet à l'aide du Système Lipoprint Quantimetrix. Ce système permet d'identifier dix différentes sous-classes de HDL en fonction de leurs tailles (HDL-1 à HDL-10) et permet aussi de les classer en HDL larges (sous classes HDL-1 à 3), HDL intermédiaires (sous classes de HDL-4 à 7) et en HDL petites (sous-classes de HDL-8 à 10). Nous avons ainsi déterminé pour chaque participant, le pourcentage de HDL-L, de HDL-I et de HDL-P. L'analyse des données a montré que, chez les personnes jeunes, un pourcentage des HDL-L (33 %) deux fois plus élevé que celui des HDL-P (13 %). À l'inverse, dans le groupe de personnes âgées les HDL-L et les HDL-P présentent presque le même pourcentage de distribution soit, 25 % et 22 % chacune respectivement (Tableau 5). La comparaison entre les deux groupes par le test de Mann Whitney a montré que les personnes âgées ont significativement moins de HDL-L ($p=0,009$) et plus de HDL-P ($p=0,001$) en comparaison avec les jeunes. Cependant, aucune différence significative n'a été observée entre les personnes jeunes et les personnes âgées par rapport au pourcentage de distribution des HDL-I ($p=0,072$) (Figure 10 et Tableau 5).

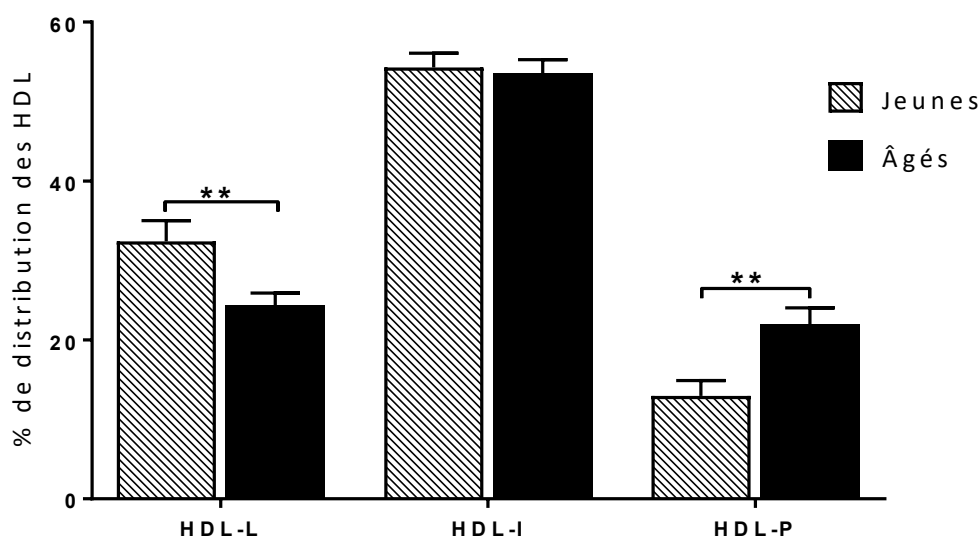


Figure 10 : Comparaison de la distribution des HDL entre les jeunes et les âgés à T0.

HDL-L : HDL larges, HDL-I : HDL intermédiaires, HDL-P : HDL petites

Test Mann whitney, $\alpha = 0,05$

** : $p < 0,005$

Tableau 5 : Distribution des différents sous classes des HDL chez les personnes jeunes et âgées à T0

	HDL-L	HDL-I	HDL-P
Groupe des jeunes	30 %	54 %	13 %
Groupe des âgées	25 %	53 %	22 %
P	<0,02	>0,05	<0,005

HDL-L : HDL larges, HDL-I : HDL intermédiaires, HDL-P : HDL petites

Test Mann whitenedy, $\alpha = 0,05$

3.3 L'effet de la supplémentation en EVOO sur les paramètres biochimiques

Le tableau 6 présente les données biochimiques des deux groupes avant et après l'intervention (25 ml/j d'EVOO pendant 12 semaines). Pour le groupe des jeunes, aucune modification significative n'a été observée au niveau de l'IMC, de la TA systolique, de la TA diastolique, des concentrations plasmatiques des différents paramètres du profil lipidique (CT, TG, LDL-C, HDL-C et CT/HDL-C) et du niveau de la glycémie ($p > 0,05$). Cependant, chez les personnes âgées, nous avons noté une diminution significative de la TA systolique, la TA diastolique et de la concentration plasmatique des TG après la supplémentation d'EVOO pendant 12 semaines en comparaison avec l'état basal (T0) ($p < 0,05$). Pour le reste des paramètres, aucun changement n'a été noté pour l'IMC, le CT, le LDL-C, le ratio CT/HDL-C et les taux de glucose dans le groupe des âgées.

Le tableau 7 montre les différences intergroupes, entre personnes jeunes et âgées, à T12. Tandis qu'il y avait une amélioration significative de la TA systolique, la TA diastolique et les taux de TG chez les personnes âgées demeurent significativement plus élevés chez les personnes âgées que chez les personnes jeunes même après les 12 semaines de supplémentation en EVOO ($p < 0,005$). Cependant, la réduction légère de l'IMC chez les personnes âgées après la supplémentation en EVOO a fait disparaître la différence qui était avec les personnes jeunes à l'état basal (T0) ($p = 0,053$).

Tableau 6 : Paramètres biochimiques des participant avant et après la supplémentation en EVOO, différence intragroupe

	Jeunes (N=27)		Agés (N=57)	
	Moyenne ± ET		Moyenne ± ET	
	T0	T12	T0	T12
<u>Caractéristiques</u>				
Âge (années)	31,81 ±6,79		70,72 ±5,6	
Sexe : hommes (%)	55,6		35,1	
IMC	24,37 ±3,16	24,48 ± 3,31	26,51 ± 4,53	26,29 ± 4,21
TA systolique	113,56 ± 8,43	114,40 ± 16,91	133,72 ± 18,42	129,34 ± 15,52*
TA diastolique	70,52 ± 7,84	69,71 ± 8,1	80,54 ± 8,6	78,32 ± 7,23*
<u>Profil lipidique</u>				
CT (mmol/l)	4,63 ± 0,95	4,45 ± 0,81	5,52 ± 0,88	5,45 ± 0,91
TG (mmol/l)	1,19 ± 0,99	1 ± 0,9	1,37 ± 0,74	1,27 ± 0,66*
HDL-C (mmol/l)	1,38 ± 0,33	1,3 ± 0,32	1,5 ± 0,4	1,53 ± 0,42
LDL-C (mmol/l)	2,7 ± 0,76	2,57 ± 0,66	3,4 ± 0,78	3,35 ± 0,77
CT/HDL-C	3,62 ± 1,4	3,44 ± 1,23	3,92 ± 1,16	3,79 ± 1,08
Glucose (mmol/l)	4,18 ± 0,46	4,35 ± 0,46	4,73 ± 0,56	4,7 ± 0,6

ET : Écart type, IMC : Indice de masse corporelle, TA : tension artérielle, CT : Cholestérol total, TG : Triglycérides, LDL-C : Cholestérol LDL, HDL-C : Cholestérol HDL, * : différence intra groupe statistiquement significative.

Test de Mann Whitney, $\alpha = 0,05$.

Tableau 7 : Comparaison des données anthropométriques et biochimiques des participants après la supplémentation en EVOO (T12), différence intergroupe

	Jeunes	Âgés	
	Moyenne \pm ET	Moyenne \pm ET	P
IMC	24,48 \pm 3,31	26,29 \pm 4,21	0,053
TA systolique	114,40 \pm 16,91	129,34 \pm 15,52	<0,001
TA diastolique	69,71 \pm 8,1	78,32 \pm 7,23	<0,001
CT (mmol/l)	4,45 \pm 0,81	5,45 \pm 0,91	<0,001
TG (mmol/l)	1 \pm 0,9	1,27 \pm 0,66	0,001
HDL-C (mmol/l)	1,3 \pm 0,32	1,53 \pm 0,42	0,102
LDL-C (mmol/l)	2,57 \pm 0,66	3,35 \pm 0,77	<0,001
CT/HDL-C	3,44 \pm 1,23	3,79 \pm 1,08	0,09
Glucose (mmol/l)	4,35 \pm 0,46	4,7 \pm 0,6	0,005

ET : Écart type, IMC : Indice de masse corporelle, TA : tension artérielle, CT : Cholestérol total, TG : Triglycérides, LDL-C : Cholestérol LDL, HDL-C : Cholestérol HDL, P : différence entre le groupe des jeunes et le groupes des âgés à T12

Test de Mann Whitney, $\alpha = 0,05$.

3.4 L'effet de la supplémentation en EVOO sur la fonctionnalité des HDL

3.4.1 *L'effet de la supplémentation en EVOO sur la CEC des HDL :*

La figure 11 présente les résultats de l'effet de la supplémentation en EVOO pendant 12 semaines sur la CEC des HDL. Ces résultats montrent une augmentation significative de la CEC chez l'ensemble des participants passant de $46,55 \% \pm 6,99$ (T0) à $49,12 \% \pm 6,04$ (T12) ($p < 0,001$).

La figure 12 présente les résultats de la CEC dans chacun des groupes (jeunes et âgées) à T0 comparée à T12. La supplémentation en EVOO n'a pas d'effet statistiquement significatif sur la CEC chez le groupe de personnes jeunes ($50,36\%$, T0 à $50,28\%$, T12; $p > 0,05$). Cependant, chez les personnes âgées nous avons noté une augmentation significative de la CEC passant de $44,74 \%$ (T0) à $48,57 \%$ (T12) ($p < 0,001$).

La figure 13 et le tableau 8 montrent la comparaison de la CEC des HDL entre le groupe de personnes jeunes et le groupe des personnes âgées après 12 semaines de la supplémentation en EVOO (T12). Contrairement à ce qui était à T0, nos résultats ne montrent pas de différences significatives au niveau de la CEC entre nos deux groupes à T12 ($p = 0,419$). La supplémentation en EVOO a induit une augmentation du CEC pour la ramener à des valeurs comparables à celles des personnes jeunes.

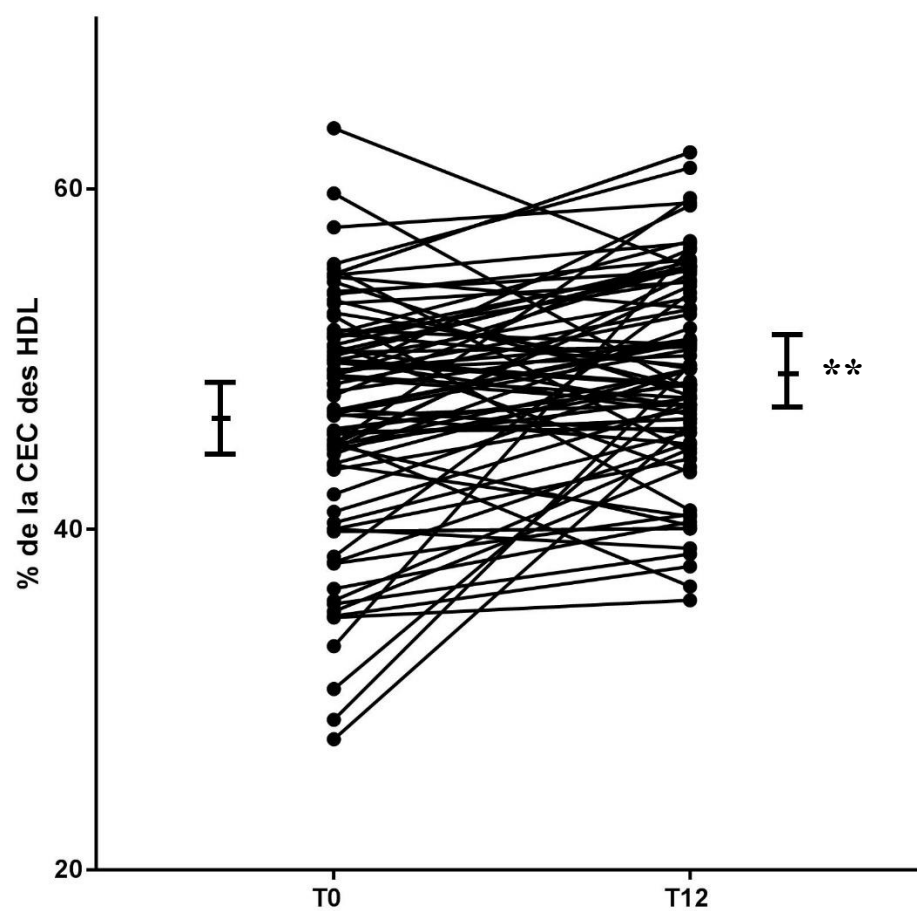


Figure 11 : Effet de la supplémentation en EVOO sur la CEC des HDL chez les 84 participants.

CEC : Capacité de l'efflux du cholestérol

Test t pour variables dépendants, $\alpha = 0,05$

** : $p < 0,005$

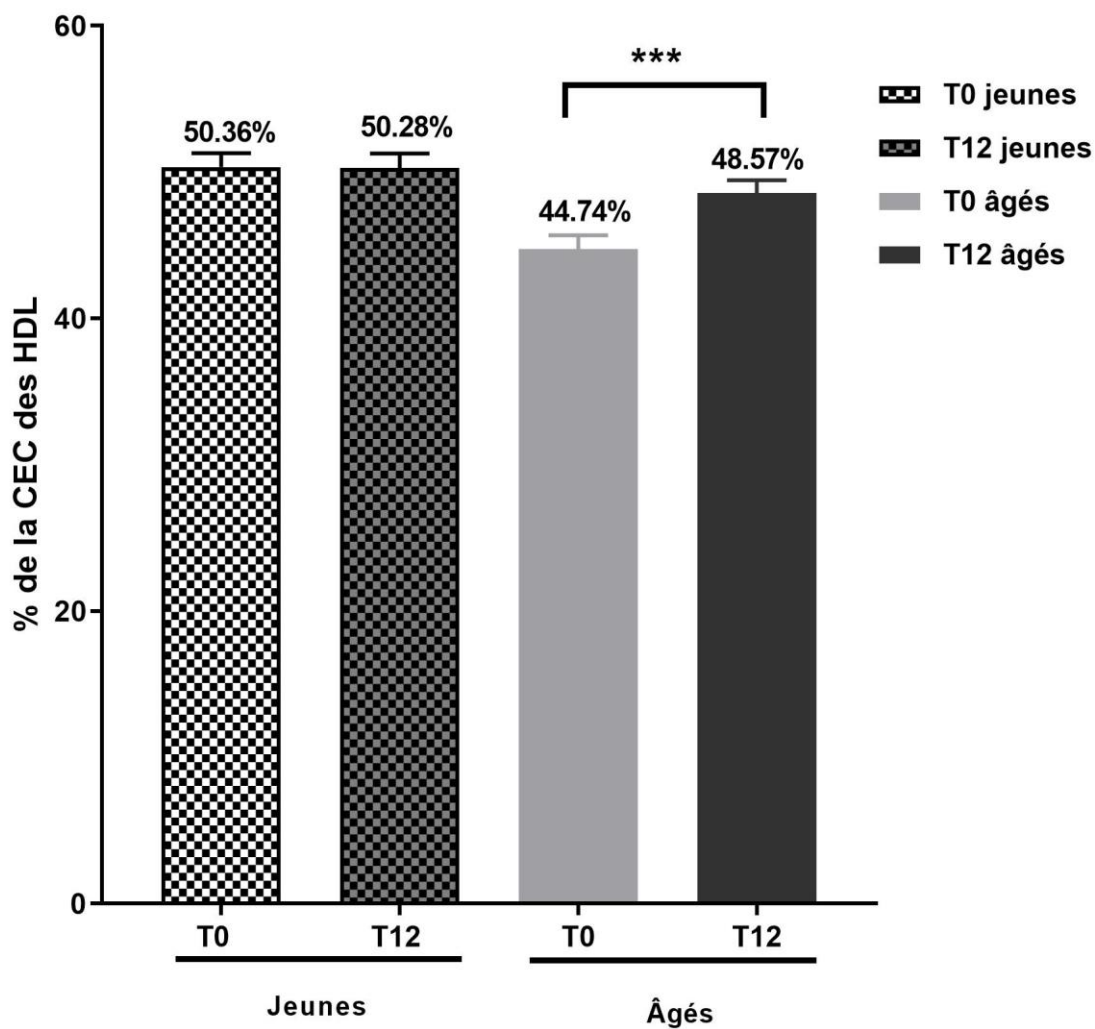


Figure 12 : Effet de la supplémentation en EVOO sur la CEC des HDL pour le groupe de jeune et le groupe des âgés séparés.

CEC : Capacité de l'efflux du cholestérol

Test de rang signés de Wilcoxon : groupe des jeunes, Test t pour variables dépendantes : groupe des âgés, $\alpha = 0,05$

***: $p < 0,001$

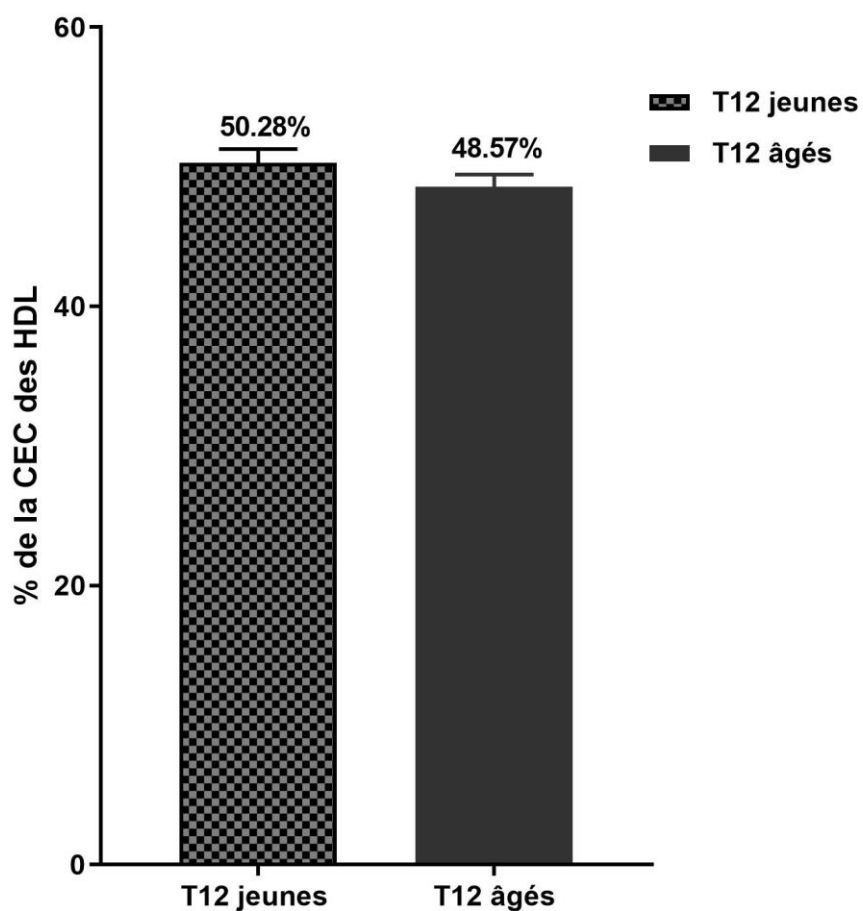


Figure 13 : Comparaison de la CEC des HDL pour les 84 participants à T12.

CEC : Capacité de l'efflux du cholestérol

Test t, $\alpha = 0,05$

Tableau 8 : Différence de la CEC des HDL entre le groupe des jeunes et le groupe des âgés à T0 et à T12

	T0	T12
Groupe des jeunes	50,51+-4,86%	51,12+5,17%
Groupes des âgés	45,70+-7,15%	49,53+-6,7%
P	<0,005	0,419

CEC : Capacité de l'efflux du cholestérol

Test Mann Whitney : groupe des jeunes, Test t : groupe des âgés, $\alpha = 0,05$.

Le tableau 9 présente les coefficients de corrélation de Pearson de la CEC avec l'âge, les HDL-C et le LDL-C. Nos résultats ont montré que les valeurs élevées de la CEC ont été associées négativement et significativement avec l'âge des participants ($p=0,01$) et avec le taux de LDL-C ($p=0,04$). Les corrélations entre ces paramètres ont été réétudiées à T12. Le Tableau 9 montre que la supplémentation en EVOO a fait disparaître la relation entre la CEC, l'âge et le taux LDL-C. En ce qui concerne le taux des HDL-C, nous avons noté une absence de corrélation entre le niveau de HDL et la CEC, que ce soit avant ou après la supplémentation en EVOO.

Tableau 9 : Corrélation de Pearson de la CEC avec l'âge, le taux de LDL-C et le taux de HDL-C, à T0 et à T12

	% de la CEC	
	T0	T12
Âge (ans)	$r = -0,279$ $p = 0,01^*$	$r = -0,012$ $p = 0,915$
HDL-C (mmol/l)	$r = 0,018$ $p = 0,869$	$r = 0,133$ $p = 0,226$
LDL-C (mmol/l)	$r = -0,222$ $p = 0,043^*$	$r = -0,043$ $p = 0,695$

CEC : capacité de l'efflux du cholestérol, CT : Cholestérol total, TG : Triglycérides, HDL-C : Cholestérol HDL, LDL-C : Cholestérol LDL, r : Corrélation de Pearson, $\alpha = 0,05$.

*: $p < 0,05$.

3.4.2 *L'effet de la supplémentation en EVOO sur la distribution des différentes sous-classes de HDL*

La figure 14 présente les résultats de l'effet de la supplémentation en EVOO sur la distribution des sous-classes de HDL chez le groupe des jeunes. Nos résultats montrent que la supplémentation en EVOO induit une diminution significative du niveau de HDL-I, passant de $54,28 \pm 9,44$ T0 à $50,94 \pm 8,81$ à T12 ($p = 0,04$). Cependant, le niveau de HDL-L et des HDL-P ne montrent pas de changements significatifs entre T0 et T12.

À l'inverse, dans le groupe des personnes âgées, comme le montre les résultats présentés à la figure 15, le pourcentage des HDL-P a diminué significativement après 12 semaines de supplémentation en EVOO, passant de $21,96 \pm 15,62$ à T0 à $18,1 \pm 9,62$ à T12 ($P < 0,05$). Les HDL-L présentent une tendance à l'augmentation suite à l'intervention, mais cette augmentation n'est pas statistiquement significative.

La figure 16 montre la comparaison de la distribution des trois sous classes des HDL entre le groupe des jeunes et des âgées à T12. Contrairement à T0, on remarque qu'il n'y a plus de différences significatives dans les pourcentages des HDL-L ($p=0,19$) et des HDL-P ($p=0,75$) après 12 semaines de supplémentation en EVOO, et que seulement la proportion des HDL-I est devenue significativement plus élevée dans le groupe âgé ($p=0,012$). Ce changement a ramené la distribution des différentes sous-classes de HDL chez les personnes âgées à un profil comparable à celui des personnes jeunes.

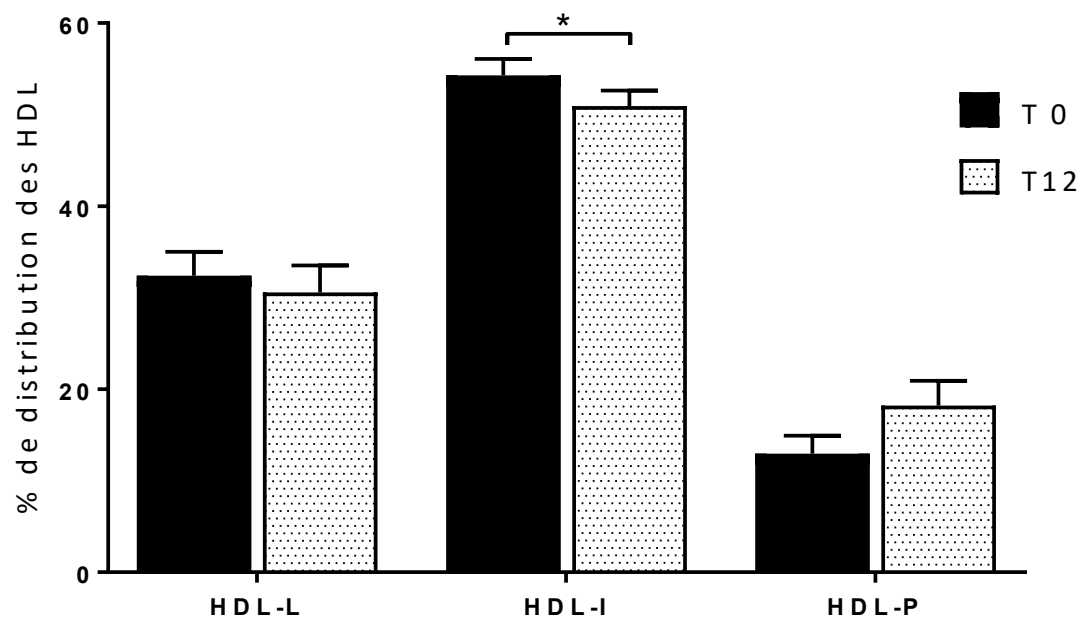


Figure 14 : Effet de la supplémentation en EVOO sur la distribution des HDL dans le groupe des jeunes.

HDL-L : HDL larges, HDL-I : HDL intermédiaires, HDL-P : HDL petites

Test de rang signés de Wilcoxon, $\alpha = 0,05$.

*: $p < 0,05$

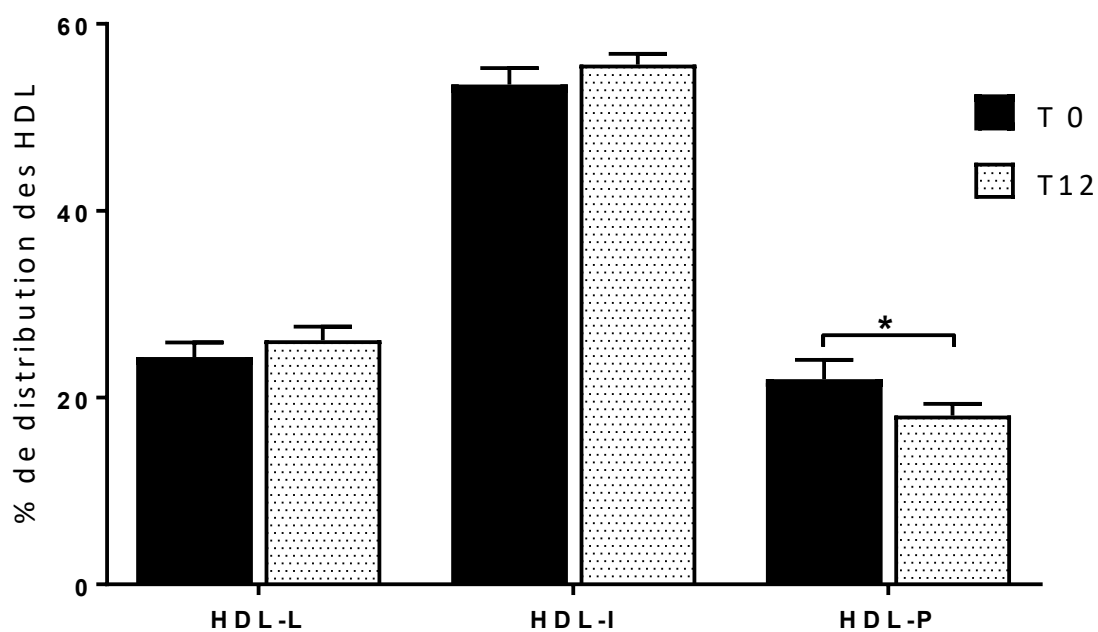


Figure 15 : Effet de la supplémentation en EVOO sur la distribution des HDL dans le groupe des âgés.

HDL-L : HDL larges, HDL-I : HDL intermédiaires, HDL-P : HDL petites

Test t pour échantillon dépendants, $\alpha = 0,05$

*: $p < 0,05$

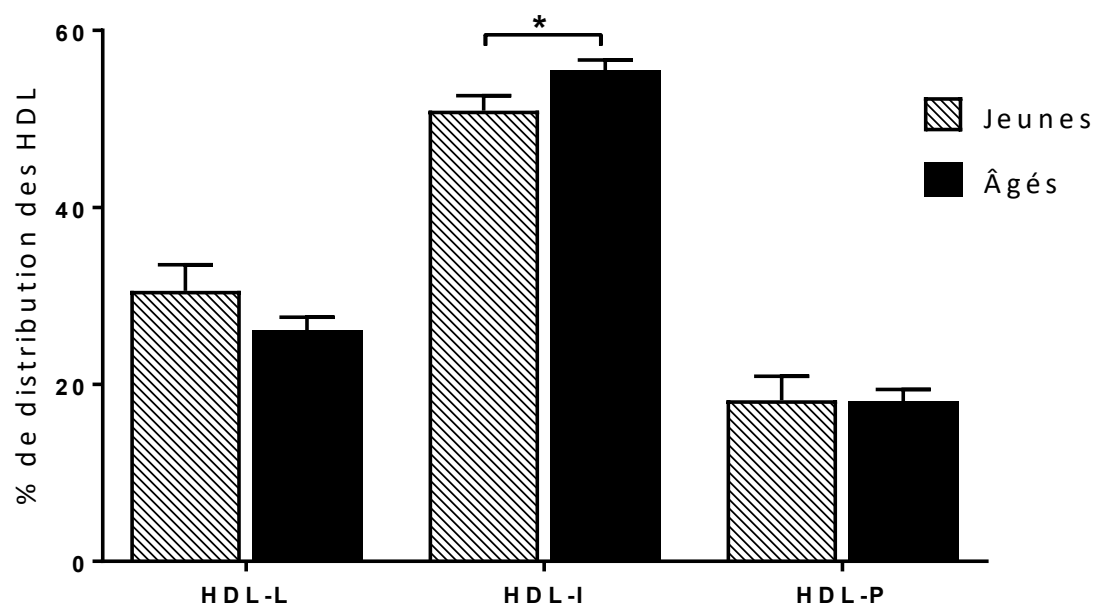


Figure 16 : Comparaison de la distribution des HDL entre les jeunes et les âgés à T12.

HDL-L : HDL larges, HDL-I : HDL intermédiaires, HDL-P : HDL petites

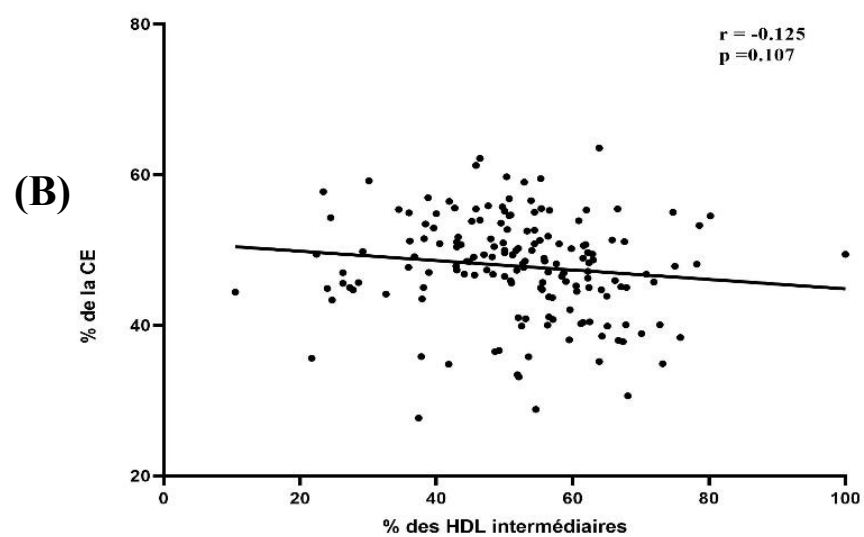
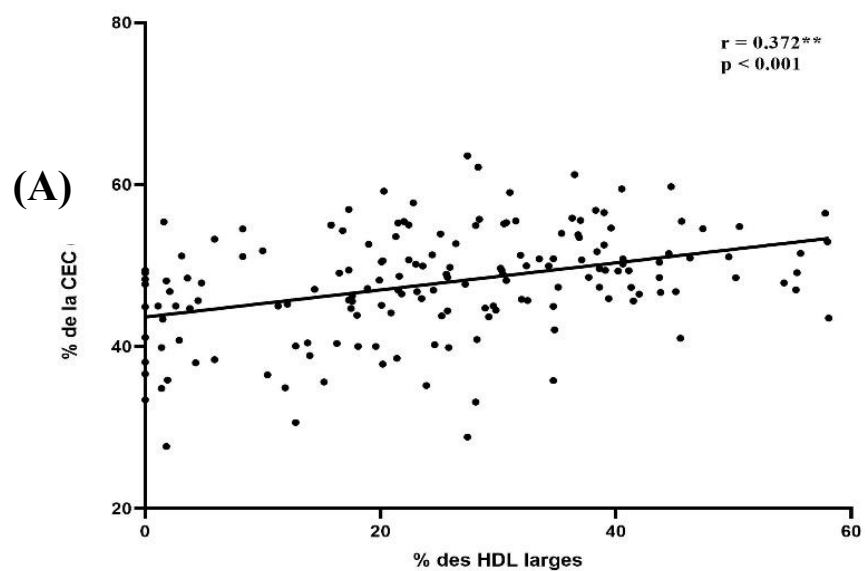
Test de Mann Whitney, $\alpha = 0,05$

*: $p < 0,05$

3.5 Le lien entre la CEC et la distribution des différentes sous-classes de HDL

Finalement, la relation entre la CEC et la distribution des différentes sous-classes des HDL, deux déterminants majeurs du risque cardiovasculaire, a été analysé et les résultats présentés à la figure 17 (A, B, C). Nos résultats montrent que la CEC était corrélée de manière significative et positive avec la concentration des HDL-L (figure 17A). Les concentrations des HDL-I n'étaient pas corrélées avec la CEC (Figure 17B). La concentration des HDL-P était inversement significativement corrélée à la CEC (figure 17C).

Un modèle de régression linéaire multiple a été réalisé qui inclus les variables suivantes : l'âge, le sexe, l'IMC, la TA systolique, la TA diastolique, le taux des TG, LDL-C, HDL-C et les taux de glucose sanguin, pour déterminer l'influence de ces paramètres sur la corrélation entre la CEC de la distribution des sous-classes des HDL. Nos résultats montrent que la corrélation positive de la CEC avec les HDL-L d'un côté et la corrélation négative de la CEC avec les HDL-P de l'autre côté demeurent significatives même après avoir ajusté les résultats par rapport aux différents paramètres ($p=0,002$ et $p=0,01$ respectivement) (Tableau 10).



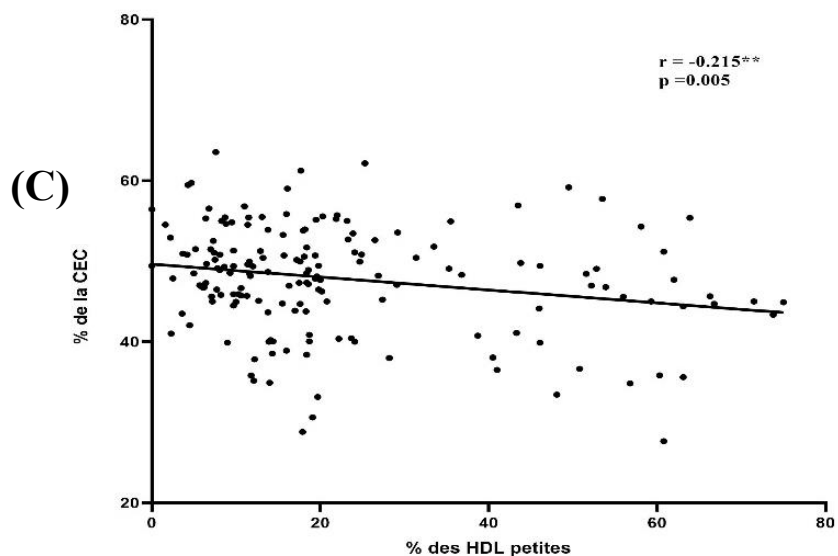


Figure 17 : Corrélation entre la CEC des HDL et la concentration des HDL larges (A), la concentration des HDL intermédiaires (B), la concentration des HDL petites (C).

HDL-L : HDL larges, HDL-I : HDL intermédiaires, HDL-P : HDL petites

Corrélation de Pearson, $\alpha = 0,05$

Tableau 10 : Régression linéaire multiple pour les corrélations entre la CEC et les HDL-L, la CEC et les HDL-P

	R	β	P	P ajusté
Corrélation entre CEC et HDL-L	0,372	0,286	<0,001	0,002
Corrélation entre CEC et HDL-P	-0,216	-0,242	0,05	0,01

CEC : capacité de l'efflux du cholestérol, HDL-L : HDL larges, HDL-I, HDL-P : HDL petites

r : corrélation de Pearson, $\alpha = 0,05$

4 QUATRIÈME CHAPITRE : DISCUSSION

4.1 Discussion des résultats

Le développement de l'athérosclérose et le risque de survenue de ses manifestations cliniques augmentent considérablement avec l'âge et ils sont responsables de la majorité de la morbidité et de la mortalité cardiovasculaires chez les personnes âgées. Selon le score de risque Framingham, le risque de survenue d'une MCV sur dix ans, augmente d'un point à chaque cinq ans (Dhingra & Vasan, 2012). Cette forte influence de l'âge sur la santé cardiovasculaire s'explique par la multiplication et la gravité des différents facteurs de risque survenant avec l'âge notamment : l'obésité, l'hypertension artérielle, l'intolérance au glucose et la dyslipidémie (Oliveras-López et al., 2013). Les résultats de notre étude vont dans le même sens et montrent que l'IMC, la TA systolique et diastolique, les niveaux de CT, des TG et de glucose sont significativement plus élevés dans le groupe âgé comparativement au groupe jeune.

Dans notre étude, nous nous sommes intéressés plus particulièrement à la dyslipidémie qui est considérée, dans l'étude INTERHEART menée dans 52 pays à travers le monde, comme le facteur le plus important pour l'infarctus du myocarde (Yusuf et al., 2004). En effet, des concentrations plasmatiques élevées en LDL-C et des concentrations faibles en HDL-C sont considérées comme des facteurs de risque indépendants des MCV (Castelli et al., 1986; Majeed & Miller, 2008). L'étude des profils lipidiques de notre population montre que les personnes âgées avaient un taux significativement plus élevé de LDL-C comparativement aux personnes jeunes. Cependant, aucune différence significative n'a été notée en ce qui concerne le niveau de HDL-C entre les personnes jeunes et âgées. Nos résultats sont en cohérence avec l'étude de Holzer et al. et l'étude de Berrougui et al. qui n'ont pas observé non plus de différences significatives dans les niveaux de HDL entre personnes jeunes et personnes âgées en bonne santé (Holzer et al., 2013, Berrougui et al., 2007).

Ces résultats combinés avec l'échec des interventions pharmacologiques visant à inhiber le CETP pour augmenter le taux plasmatique de HDL-C, suggèrent que la mesure de la quantité de HDL-C seule n'est pas un bon marqueur dans l'évaluation du risque cardiovasculaire et que la mesure de la qualité des HDL pourrait être un meilleur marqueur du potentiel anti-athérosclérotique des HDL.

La qualité ou la fonctionnalité des HDL est définie par leur capacité à assurer leurs fonctions antiathérogènes entre autres, la CEC par les HDL de même que leurs activités anti-oxydante et anti-inflammatoire (Arora et al., 2016). Dans notre projet, nous avons ciblé la CEC comme étant un marqueur de la fonctionnalité des HDL et de son potentiel anti-athérosclérotique. En effet, plusieurs

études ont montré une corrélation inverse entre la CEC et le risque de complications cardiovasculaires (Rohatgi et al., 2014; Anastasius et al., 2016).

Les HDL sont toutefois, des particules très hétérogènes représentant une famille de différentes sous-classes qui diffèrent par leurs propriétés physicochimiques et par leurs capacités de protection contre l'athérosclérose (Ortiz-Munoz et al., 2016). Les études antérieures ont montré que la CEC dépend d'un déterminant majeur qui est la distribution des sous-classes de HDL (Rothblat & Phillips, 2010). En prenant en considération la taille des HDL, ces dernières pourraient être classées en 3 sous-classes; HDL-L, HDL-I et HDL-P.

La relation entre le risque cardiovasculaire et la CEC d'un côté et le risque cardiovasculaire et la taille des HDL de l'autre côté sont largement étudiés dans la littérature. Les études antérieures ont montré que les MCV sont associés à une altération dans la CEC des HDL (Rohatgi et al., 2014) et un changement dans la distribution des sous-classes des HDL caractérisé par une diminution des HDL2 ou HDL-L et une augmentation du HDL3 ou HDL-P (Hernaez et al., 2016). Cependant, peu de données existent concernant l'effet du vieillissement sur la CEC et la taille des HDL. Étant donné l'influence de l'âge dans les MCV, un des objectifs de cette étude est d'évaluer l'effet de l'âge sur la fonctionnalité des HDL, précisément sur la CEC des HDL et sur la distribution des sous-classes de HDL.

Nos résultats montrent que les personnes âgées avaient une réduction significative de la CEC par les HDL en comparaison aux personnes jeunes. Nos résultats sont en cohérence avec une étude pilote dans notre laboratoire portant sur 8 personnes jeunes et 9 âgées (Berrougui et al., 2007). Les résultats de Berrougui et al. ont montré que l'âge induit une altération de la CEC qui a été attribuée à une altération de la voie ApoA-1-ABCA1 (Berrougui et al., 2007). Plus précisément, et selon ces auteurs, l'altération de l'efflux via cette voie était due aux modifications oxydatives de l'ApoA-I, modifications associées au processus du vieillissement (Berrougui et al., 2007). Puisque, l'Apo A-1 est responsable en très grande partie (75 à 80%) de l'efflux de cholestérol via la voie ABCA1 (Fielding & Fielding, 1981), son altération affecte significativement la CEC totale. En cohérence avec cette explication, des études génétiques ont montré que des mutations au niveau du ABCA1 chez l'homme sont associées à une susceptibilité accrue de l'athérosclérose (Bodzioch et al., 1999, Fitzgerald et al., 2002). À l'inverse, les résultats de l'étude Holzer et al. n'ont pas observé un effet d'âge sur la CEC par les HDL (Holzer et al., 2013). Cette contradiction par rapport à nos résultats et à ceux de Berrougui et al. pourrait être expliquée par des différences méthodologiques, notamment la durée d'incubation des HDL avec les macrophages qui était très longue dans l'étude de Hozler et al.. En effet, un plus long temps d'incubation des HDL avec les macrophages permettrait à ces

derniers de réabsorber le cholestérol transféré vers les HDL conduisant ainsi à des niveaux de CEC plus faibles (Holzer et al., 2013). De plus, cette contradiction pourrait être expliquée par un manque de puissance due au petit nombre de participants dans l'étude de Hozler et al. (46 participants) par rapport à notre étude (84 participants).

L'analyse de la distribution des différentes sous-classes de HDL montre que les personnes âgées avaient significativement moins de HDL-L et plus de HDL-P en comparaison aux personnes jeunes. Ce changement dans le profil des sous-classes de HDL pourrait être expliqué par les modifications biochimiques qui surviennent au cours du vieillissement. Nombreuses études ont montré que les HDL des personnes âgées sont caractérisées par des modifications significatives dans leur composition en protéines et en lipides, comparativement aux personnes jeunes (Ahn & Kim, 2016). En effet, plusieurs études ont montré que les HDL des personnes âgées avaient une teneur réduite en CL et CT, une teneur élevée en sphingomyéline (Holzer et al., 2013), en plus d'une rigidification de leur couche lipidique (Hernández et al., 2014) et une augmentation de leur sensibilité à la peroxydation lipidique (Berrougui et al., 2007). Les HDL des personnes âgées subissent aussi des modifications dans leur teneurs en protéines qui seraient remplacées par les protéines inflammatoires de la phase aiguë (Khovidhunkit et al., 2004). Ces modifications au niveau de la composition et de la structure des HDL de personnes âgées soulèvent la possibilité que les HDL se transforment en des particules de petite taille dysfonctionnelles ou avec des fonctions antiathérogènes réduites (Khovidhunkit et al., 2004). Ceci est en accord avec nos résultats montrant que l'augmentation du niveau de HDL-P est associée à une réduction du CEC par ces HDL.

En somme, nos résultats montrent que, bien que le niveau plasmatique de HDL (HDL-C) n'ait pas été significativement différent entre nos deux groupes (jeunes et âgés), la qualité ou la fonctionnalité des HDL est significativement altérée chez les personnes âgées en comparaison aux jeunes. Ces résultats soulèvent la possibilité que les HDL dysfonctionnelles contribuent au lourd fardeau des MCV chez les personnes âgées (Holzer et al., 2013).

En termes de prévention, nombreuses études épidémiologiques et cliniques ont montré des effets bénéfiques du régime méditerranéen sur la santé cardiovasculaire (Rosato et al., 2019; Estruch et al., 2013). Particulièrement l'huile d'olive, qui représente la principale source de graisse du régime méditerranéen, a montré des effets favorables sur le risque d'incidence des MCV (Hu, 2003). Les études antérieures ont montré que la consommation d'EVOO permet de diminuer le risque cardiovasculaire en agissant sur les facteurs de risque traditionnel dont le profil lipidique, la TA, le métabolisme du glucose, le stress oxydatif et les profils thrombotiques (Martín-Peláez et al., 2013; López-Miranda et al., 2010). Récemment, deux études de Hernández et al. et une étude de Fernández

et al. ont montré que la supplémentation en EVOO permet d'améliorer la CEC et l'activité antioxydante des HDL, de même que la distribution des sous-classes de HDL (Hernández et al., 2014; Hernández et al., 2017; Fernández-Castillejo et al., 2017). Toutefois, ces études ont porté soit sur des hommes jeunes seulement, soit des personnes à haut risque cardiovasculaire. Or, bien que l'âge représente l'un des plus importants facteurs de risque pour les MCV, il n'existe pas d'études qui ait investigué l'effet de la supplémentation en EVOO sur la fonctionnalité ou la qualité des HDL.

Nos résultats montrent que la supplémentation en EVOO pendant 12 semaines améliore significativement la CEC par les HDL pour la ramener à des niveaux comparables à celle des personnes jeunes. De plus, la supplémentation en EVOO induit un changement dans la distribution des HDL en réduisant significativement le nombre de HDL-P et en augmentant le nombre de HDL-L chez les personnes âgées. Nos résultats sont en accord avec trois études de Hernández et al. qui ont montré dans leurs essais cliniques randomisés qu'une supplémentation avec 25 mL/jour d'EVOO pendant trois semaines pour les deux premières études (Hernández et al., 2014, Fernández et al., 2017) et 12 mois pour la troisième (Hernández et al., 2017), a permis d'améliorer la CEC des HDL. Cependant, notre étude est la seule à avoir montré un tel effet chez une population âgée. De plus, notre étude a porté sur les HDL totaux (l'ensemble pré- β HDL, HDL3 et HDL2) contrairement aux autres études qui en raison de la méthode de séparation des HDL par ultracentrifugation, excluent la fraction de pré- β HDL (Fernández-Castillejo et al., 2017).

L'amélioration de la CEC par les HDL pourrait être expliquée par les changements physico-chimiques qui surviennent dans les HDL après une consommation à long terme d'EVOO. Les études antérieures ont montré que l'EVOO induit des effets bénéfiques sur différentes propriétés des HDL associées à leur fonctionnalité, dont la composition chimique et les activités des enzymes qui leur sont associées (Hernández et al., 2014, Hernández et al., 2017). Ces effets ont été attribués aux différents composants de l'EVOO, principalement aux AGs mono-insaturés et aux composés bioactifs, particulièrement les polyphénols (Hohmann et al., 2015). Il a été décrit précédemment que l'oxydation des HDL induit une rigidification de leur couche lipidique et affecte considérablement leur capacité à promouvoir l'efflux de cholestérol (Bonnet-Rousselot et al., 1995). Les polyphénols contenus dans l'EVOO, en raison de leur effet antioxydant, réduisent la rigidification des HDL et améliorent leur CEC (Hernández et al., 2014). Ainsi que, la fluidité membranaire des particules de HDL est considérée comme un marqueur important de sa fonctionnalité. La supplémentation d'EVOO était associée dans l'étude de Hernández et al. à une conformation plus stable de l'ApoA-I formant les HDL suite à la diminution de la teneur en TG des HDL et cela pourrait expliquer en partie l'amélioration de la CEC (Hernández et al., 2017). De même l'étude de Fernández-

Castillejo et al. a montré une augmentation du niveau d'ApoA-I dans les HDL suite à une consommation de EVOO (Fernández-Castillejo et al., 2017). Finalement, une étude de notre laboratoire a montré que les composées phénoliques purifiés de l'EVOO induisent une augmentation de l'expression des transporteurs ABCA1 et ABCG1, responsables en une grande partie de la régulation l'efflux du cholestérol à partir des différents modèles cellulaires (Helal et al., 2013).

En ce qui concerne la taille des HDL, nos résultats montrent un effet bénéfique de la supplémentation en EVOO sur la distribution des sous-classes de HDL. Chez nos participants âgés, nous avons noté une diminution significative de la proportion des HDL-P et une augmentation des proportions des HDL-L et des HDL-I qui sont toutefois non significatives. Quant au groupe de jeunes, seules les HDL-I ont diminué d'une manière significative et aucun changement significatif n'a été noté pour les HDL-L et les HDL-P. Ce changement dans les deux profils fait disparaître la différence selon l'âge et ramène le profil de distributions des sous-classes de HDL chez la personne âgée à des niveaux comparables à ceux des personnes jeunes.

Nous avons comparé nos résultats avec trois ECR qui ont étudié l'effet de l'EVOO sur la distribution des sous-classes de HDL. Les travaux de Hernáez et al. et Fernández-Castillejo et al. ont montré que la supplémentation en EVOO ou d'huile d'olive enrichie en polyphénols pendant trois semaines a permis d'augmenter la proportion des HDL-L et de diminuer la proportion des HDL-P (Hernáez et al., 2014, Fernández-Castillejo et al., 2017). Nos résultats sont en accord avec les résultats de ces deux études, pour le groupe des personnes âgées. En effet nous avons noté une diminution significative des HDL-P et une tendance à l'augmentation pour les HDL-L dans ce groupe. Dans l'étude de Hernáez et al, ils ont inclus des hommes jeunes âgés entre 20 et 60 ans. Ce choix peut favoriser encore mieux l'effet d'EVOO puisque les hommes ont un profil lipidique à l'état basal plus détérioré que les femmes (Leblanc et al., 2015), et surtout pour la tranche d'âge de 45 ans et plus (Francisco J et al., 2013). Fernández-Castillejo et al. ont inclus des participants à haut risque des MCV ce qui explique une « meilleure » réponse à la supplémentation en EVOO (Fernández-Castillejo et al., 2017). Rappelons que dans le groupe des personnes jeunes de notre étude, l'EVOO n'a pas montré des effets significatifs sur la proportion des HDL-L et HDL-P. Ces résultats peuvent être expliqués par le fait que les participants jeunes de notre étude sont âgés entre 18 et 45 ans. Donc nous considérons qu'ils ont une distribution des sous-classes des HDL proche de la distribution normale.

La troisième étude est de Hernáez et al 2017. C'est une large étude qui s'est déroulée sur un an dans laquelle ils ont comparé l'effet d'une diète de type méditerranéen enrichi avec l'EVOO ou en noix avec un groupe contrôle qui a reçu une diète faible en gras. Les résultats de cette étude ont montré

que la diète de type méditerranéen enrichie en EVOO a permis d'augmenter seulement les proportions de HDL-L d'une manière significative (Hernández et al., 2017). À titre de rappel, dans notre étude nous n'avons pas trouvé une différence significative par rapport aux taux de HDL-L dans les deux groupes. Cette différence peut être expliquée par la durée de l'étude, notre étude s'est déroulée sur 3 mois en comparaison à un an dans l'étude de Hernández et al. (Hernández et al. 2017). Aussi le choix des participants qui étaient des personnes à haut risque cardiovasculaire dans l'étude de Hernández et al. (Hernández et al., 2017). Tous ces résultats suggèrent que l'EVOO favorise la maturation des HDL par la transformation des HDL-P en HDL-L.

L'effet bénéfique de l'EVOO sur la maturation des HDL peut être expliqué par différents mécanismes, mais particulièrement par son effet sur les enzymes associées aux HDL. La LCAT est une enzyme liée aux HDL qui a un rôle important dans la maturation des HDL, elle favorise l'estérification du cholestérol libre pour convertir progressivement les HDL-3 (ou HDL petite) en HDL-2 (ou HDL-L) (Liang et al., 1996). Dans l'étude de Hernández et al., la diète de type méditerranéenne enrichie en EVOO a permis d'augmenter l'activité plasmatique de la LCAT (Hernández et al., 2017). Cette amélioration était expliquée dans cette étude par le fait que la LCAT est très sensible à l'oxydation (Wang & Subbaiah, 2000) et que des polyphénols existant dans l'EVOO permettent de protéger cette enzyme contre les dommages oxydatifs. La protection de la LCAT par l'EVOO lui confère une meilleure activité, donc une meilleure capacité à favoriser la maturation des HDL pour former plus des HDL-L.

Une autre enzyme, la CETP est aussi une enzyme clé impliquée dans la maturation des HDL. Elle est responsable du transfert du cholestérol des HDL vers VLDL/LDL (Ramasamy, 2014) ce qui favorise la formation des HDL dysfonctionnelles riche en TG (Kontush & Chapman, 2006). L'activité de cette enzyme est accrue chez les patients à haut risque pour les MCV (Barter et al., 2015). L'étude de Hernández et al., a montré une diminution significative de l'activité enzymatique de la CETP après une diète méditerranéenne enrichie en EVOO (Hernández et al., 2017).

Outre l'effet bénéfique de l'EVOO sur la CEC et la taille des HDL, nos résultats montrent aussi que la supplémentation de 25 ml/j de EVOO pendant 12 semaines a permis de diminuer significativement la TA systolique et la TA diastolique dans le groupe des personnes âgées. Différentes études ont montré que l'EVOO a des effets bénéfiques sur la TA. La supplémentation en EVOO a permis de diminuer la TA systolique chez des personnes âgées hypertensives (Perona et al., 2004) et chez des hommes avec une maladie coronarienne stable (Fitó et al., 2005). De même, une autre étude a montré que la supplémentation en EVOO a permis de diminuer à la fois, la TA systolique et la TA diastolique

chez des jeunes femmes souffrant d'hypertension légère (Moreno-Luna et al., 2012) et la TA diastolique chez des femmes adultes avec excès de graisse corporelle (Galvão Cândido et al., 2018).

L'effet bénéfique de l'EVOO sur la PA est le résultat de différents mécanismes. Il a bien été démontré que la réduction sérique du monoxyde d'azote (NO) et de endothéline 1 (ET-1) joue un rôle essentiel dans le dysfonctionnement endothélial et l'hypertension (Bulló et al., 2017). L'EVOO, grâce à sa richesse en polyphénols, induit une amélioration de la sécrétion dans l'endothélium de NO et de l'ET-1 (Bulló et al., 2017, Hernáez et al., 2017), ce qui explique la réduction de la pression artérielle après la consommation de l'EVOO. Ainsi que, sur le plan génétique, l'EVOO induit une amélioration dans l'expression des gènes de ces deux marqueurs, le NO et l'ET-1.

En plus de son effet sur la TA, nos résultats montrent que les niveaux des TG ont aussi diminué significativement chez les personnes âgées après la supplémentation en EVOO. Ces résultats sont en cohérence avec un ECR à double insu qui a inclus 62 sujets âgés en bonne santé (Oliveras-López et al., 2013). Ils ont montré que la supplémentation d'EVOO pendant 6 semaines a permis de diminuer le taux de TG (Oliveras-López et al., 2013). Ce changement dans le taux des TG peut être expliqué par l'effet de l'EVOO sur les différents déterminants du profil lipidique, citant les LDL-C, HDL-C, l'état oxydatif des lipoprotéines (Covas, de la Torre, et al., 2006).

En revanche, dans le groupe des personnes jeunes nous n'avons pas noté des changements dans leurs TA et taux de TG. Différents facteurs peuvent expliquer ces résultats. Premièrement, un manque de puissance statistique à cause du petit nombre d'échantillons dans le groupe des jeunes, $n=27$. Deuxièmement, comme nous avons déjà indiqué, les personnes âgées ont des TA et des taux de TG de base, plus altérés que les jeunes et par conséquent ils répondent mieux à l'intervention. Finalement, l'âge des personnes jeunes était défini entre 18 et 45 ans, cette tranche d'âge qui n'est pas encore trop affecté par les changements qui peuvent être attribués au vieillissement. À noter que, malgré l'amélioration de la TA et du taux TG chez les personnes âgées la différence intergroupe reste toujours significatives.

Pour le reste des paramètres, le CT, le LDL-C et le HDL-C, nous n'avons pas noté un changement significatif dans leurs concentrations plasmatiques après la supplémentation en EVOO dans les deux groupes. Nos résultats sont en accord avec la méta-analyse de Hohmann et al. dans laquelle ils ont inclus 8 essais cliniques randomisés et ils ont comparé l'effet de l'huile d'olive riche en polyphénols et l'huile d'olive pauvre en polyphénols sur les biomarqueurs de risque classiques des MCV. La synthèse de ces 8 études n'a montré aucun effet de HO-PP sur le CT, sur HDL-C et sur LDL-C (Hohmann et al., 2015). Cependant, l'étude de Oliveras-López et al. a montré que la supplémentation

d'EVOO engendre une réduction significative du CT et du LDL-C et une augmentation significative du HDL-C chez 62 sujets âgés en bonne santé (Oliveras-López et al., 2013). Cette divergence dans les résultats peut être expliquée par la différence dans les protocoles utilisés. Il a été démontré que les effets des polyphénols sur la santé peuvent varier en fonction de la dose d'huile et de la durée de l'intervention (Fitó et al., 2007). Pour l'étude de Hohmann et al. la quantité de EVOO administrée est de 50 ml/jour en comparaison à 25 ml/jour dans notre étude. De plus, dans l'étude de Hohmann et al., ils ont utilisé l'EVOO en remplacement pour toutes autres sources de lipides (Hohmann et al., 2015). Cela peut expliquer le meilleur effet de la supplémentation en EVOO observé dans l'étude de Hohmann et al. en comparaison à la nôtre. Un autre déterminant de l'effet de l'EVOO est la concentration des polyphénols dans l'huile choisie (Hernández et al., 2014).

Les résultats de notre étude montrent que les niveaux de HDL-L sont corrélés de manière significative et positive avec la CEC ($r = 0,372$; $p < 0,05$). À l'inverse, les niveaux de HDL-P sont inversement et significativement corrélés à la CEC ($r = -0,215$, $p < 0,05$). Ces corrélations demeurent significatives même après ajustement pour les variables susceptibles d'être confondantes. Pour les HDL-I, nous n'avons noté de corrélation significative entre les niveaux HDL-I et la CEC.

L'association entre la CEC et la taille des HDL a été déjà étudiée, mais dans différents contextes. Mutharasan et al. ont évalué cette association chez des personnes âgées en bonne santé, avec ou sans risque cardiovasculaire élevé, dans le cadre d'une étude transversale (Mutharasan et al., 2017). Leurs résultats ont été en cohérence avec nos résultats en ce qui concerne la relation entre la CEC et les HDL-L d'un côté et la CEC et les HDL-P d'un autre côté ($r = 0,560$ et $r = -0,14$ respectivement). Cependant, la CEC était positivement corrélée avec les HDL-I ($r = 0,20$) contrairement à ce que nous avons observé dans notre étude (Mutharasan et al., 2017). Fernández-Castillejo et al ont montré les mêmes résultats que l'étude de Mutharasan et al. chez des participants avec hypercholestérolémie (corrélation entre CEC et HDL-L $r=0,244$, HDL-I $r=0,273$ et HDL-P $r=-0,349$) (Fernández-Castillejo et al., 2017). El Khoudary et al. ont aussi évalué l'association entre la CEC et la taille des HDL chez les femmes pré et post ménopausées dans une étude longitudinale. Ils ont montré une corrélation positive entre la CEC et les HDL-L ce qui est en accord avec nos résultats ($r = 0,67$). À l'inverse, la CEC était positivement corrélée avec les HDL-I ($r = 0,46$) et aucune corrélation n'a été trouvée entre la CEC et HDL-P ($r = -0,26$) (El Khoudary et al., 2016).

La quantification de l'association entre la CEC et la taille des HDL n'était pas largement étudiée. Néanmoins, de nombreuses études ont évalué la taille et la CEC des HDL en même temps, dont

quelques-unes ont soulevé des résultats contradictoires concernant lesquelles des sous-classes des HDL qui présenteraient les meilleures fonctions athéroprotectrices (Fernández-Castillejo et al., 2017). Dans les études épidémiologiques, une diminution des HDL-L et une augmentation du HDL-P étaient trouvées chez les personnes ayant des MCV ou un risque élevé des MCV (Arsenault, Lemieux, et al., 2009) ; Pirillo et al., 2013; Farràs et al., 2015). Notre étude a montré aussi une diminution des HDL-L et une augmentation du HDL-P chez les personnes âgées comparativement aux personnes jeunes en bonne santé. L'ensemble de ces résultats suggèrent que les HDL-L ont le meilleur effet athéroprotecteur.

À l'inverse, les études de l'efflux du cholestérol, suggérant que les pré- β HDL et les HDL3 sont les plus efficaces pour permettre l'efflux de cholestérol via la voie ABCA-1 (Du et al., 2015, Favari et al., 2009). D'un point de vue mécanistique, Du et al. ont évalué la CEC des HDL in vitro sur divers accepteurs de HDL, y compris les sous-fractions de HDL2 et HDL3 isolées à partir de plasma humain ainsi que des HDL reconstitués de différents diamètres. Ils ont constaté que dans les deux cas, les HDL humaines ou reconstituées, les HDL denses et de petites tailles permettent un plus grand efflux du cholestérol (Du et al., 2015).

Bien que les HDL-P soient d'excellents médiateurs de l'efflux de cholestérol, leur présence en fortes concentrations dans le sérum peut représenter un blocage de la maturation de ces dernières (Mutharasan et al., 2017). Ce blocage pourrait être le résultat d'une déficience de l'activité des enzymes impliquées dans le cycle de maturation des HDL ou d'un remodelage enzymatique excessif des HDL larges (Tian et al., 2011, Borggreve et al., 2003, Tashiro et al., 2009). Appuyant cette idée, une étude antérieure de notre laboratoire a montré que l'altération de la CEC chez les personnes âgées était attribuée plus à sa réduction par l'intermédiaire des HDL3 (ou de petite taille) (Berrougui et al., 2007). En somme, l'altération dans la maturation des HDL favorise la formation des HDL petites dysfonctionnelles. Ce qui explique l'augmentation des HDL-P chez les patients à risque des MCV élevé et chez les personnes âgées.

4.2 Forces et limites

Notre étude est l'une des premières études qui ont déterminé l'effet de l'âge sur deux déterminants majeurs de la qualité des HDL, la CEC et la distribution des sous-classes des HDL. Aussi, notre population était constituée d'hommes et de femmes à différents âges, en bonne santé ce qui permet une meilleure représentativité de la population générale. En ce qui concerne la méthodologie, la séparation des HDL du plasma par la méthode de PEG qui permet de conserver dans le surnageant

toutes les sous-classes d'HDL contrairement à l'ultracentrifugation qui ne représente pas fidèlement les HDL pré- β . De plus, la mesure de la distribution des HDL était effectuée par le système Lipoprint qui était validé par la FDA et présente de très bonnes qualités métrologiques.

Pour le dosage de la CEC, le choix des cellules THP-1 permet d'évaluer plus des voies de transfert du cholestérol cellulaire vers les HDL. De même l'effet de l'EVOO sur la CEC et la distribution des sous-classes des HDL a été étudié pour la première fois chez des personnes en bonne santé sur une longue période (12 semaines). Finalement, il est à noter que cette étude est la première à quantifier l'association entre la CEC et la taille des HDL, deux déterminants majeurs dans la prévention du risque cardiovasculaire, chez des adultes à différents âges et en bonne santé.

Cependant, notre étude a des limites. Premièrement, l'efflux de cholestérol a été mesuré ex vivo, mais le transport du cholestérol vers le foie, la deuxième partie du transport inverse du cholestérol, n'a pas été évalué. Deuxièmement, il n'existe pas de groupe témoin ce qui limite la validation de l'efficacité de notre intervention. Troisièmement, la diète et l'activité physique n'étaient pas contrôlées. Des changements dans la quantité des polyphénols ou des antioxydants provenant d'autres aliments ou bien une activité physique élevée pourraient favoriser une augmentation de la fonctionnalité des HDL. Quatrièmement, le petit nombre d'échantillons dans notre groupe de personnes jeunes constitue une limite dans ce projet et pourrait diminuer notre puissance statistique. Finalement, nous n'avons pas étudié le reste des fonctions anti athérogènes des HDL et leurs compositions ce qui pourrait mieux aider à comprendre l'effet de l'âge et de la supplémentation d'EVOO sur la qualité des HDL.

5 CINQUIÈME CHAPITRE : CONCLUSION

Au cours du vieillissement, les modifications biochimiques qui apparaissent affectent plusieurs facteurs de risques des MCV parmi lesquelles la dyslipidémie qui représente le facteur de risque cardiovasculaire le plus important. À cet égard, plusieurs études ont été réalisées ciblant le profil lipidique pour prévenir le risque cardiovasculaire. Ils ont montré que les médicaments hypolipémiantes sont insuffisants pour prévenir le risque. Ainsi que, les interventions qui ont essayé d'augmenter le taux HDL-C ont rapporté un échec sur le plan clinique. Pour cela, actuellement la qualité ou la fonctionnalité des HDL est suggérée comme un nouveau biomarqueur du risque cardiovasculaire. Dans notre étude, la fonctionnalité des HDL était évaluée, premièrement, par la mesure in vitro de la CEC des HDL qui représente l'étape clé de la majeure fonction anti athérogène des HDL. Étant donné que la CEC dépend de la distribution des sous-classes des HDL, ce dernier représente notre deuxième déterminant pour évaluer la fonctionnalité des HDL.

Nos résultats ont montré que bien qu'il n'y ait pas de différence significative dans les niveaux de HDL-C entre les personnes jeunes et les personnes âgées, il y avait une altération dans la CEC et une modification défavorable de la distribution des différentes sous classe des HDL chez les personnes âgées en comparaison aux personnes jeunes. Cette altération dans la qualité des HDL chez les personnes âgées pourrait expliquer l'augmentation de l'incidence des MCV observée au cours du vieillissement. Ces résultats proposent que l'interprétation du taux de HDL-C sans tenir compte de leur fonctionnalité pourrait être controversée.

Étant donné son effet bénéfique sur la santé cardiovasculaire, nous avons évalué l'effet de l'EVOO sur la CEC et la taille des HDL. Nos résultats ont montré que la supplémentation de 25 ml/jour d'EVOO pendant 12 semaines a permis d'améliorer la CEC des HDL, chez les personnes âgées pour la ramener à des valeurs comparables à celles des personnes jeunes. Outre l'amélioration de la CEC des HDL, la supplémentation en EVOO a induit une modification de la distribution des sous-classes des HDL pour la rendre comparable à celle des personnes jeunes. Aussi, la supplémentation en EVOO est accompagnée par une réduction de la TA et le taux des TG dans le groupe des âgés. Ces résultats suggèrent que l'EVOO pourrait moduler l'homéostasie du cholestérol in vivo et réduire considérablement les dépôts de cholestérol dans les artères. Notre étude est en cohérence avec les résultats des études antérieures montrant que la consommation d'huile d'olive extra-vierge contribue à réduire le risque cardiovasculaire.

En conclusion, notre étude peut contribuer à mieux comprendre l'effet du vieillissement sur la qualité ou la fonctionnalité des HDL, ce qui contribue ainsi à la compréhension de l'augmentation du risque des MCV chez les personnes âgées. Aussi, nos résultats permettent d'établir l'effet d'intervention nutritionnelle sur la fonctionnalité des HDL chez les personnes âgées. Notre projet met en évidence des nouvelles cibles thérapeutiques prometteuses pour réduire le risque cardiovasculaire et cela par le biais des nouvelles recommandations et des stratégies nutritionnelles adaptées aux besoins spécifiques de la personne âgée.

6 PERSPECTIVES

En se basant sur les limites de notre étude, il serait pertinent de confirmer nos résultats dans un ECR qui inclut un groupe témoin et avec un contrôle de la diète et de l'activité physique, puisqu'ils sont considérés comme deux facteurs de confusion potentiels. De plus, les études antérieures ont montré que les modifications du profil lipidique commencent à l'âge de 45 ans pour atteindre son maximum entre l'âge de 45 ans et 65 ans. Dans notre étude nous n'avons pas inclus les personnes âgées entre 45 et 65 ans afin de former un groupe de jeunes chez lesquelles les modifications biologiques liés au vieillissement ne sont pas encore eu lieu. Pour cela, pour les études prochaines, il sera pertinent de cibler cette tranche d'âge pour déterminer si les modifications de la fonctionnalité des HDL commencent à un âge plus précoce, dans ce cas une prise en charge plus précoce sera nécessaire. De plus, peu d'études existent concernant l'effet de l'âge sur la composition des HDL et sur les autres fonctions antiathérogènes des HDL bien que les personnes âgées représentent une portion importante de la population générale. Pour cela des études supplémentaires sont nécessaires pour mieux comprendre l'effet de l'âge et de l'EVOO sur ces paramètres afin de mieux prévenir le risque cardiovasculaire. Finalement, sur le plan clinique, il sera aussi pertinent d'étudier l'effet d'une intervention à long termes de l'EVOO directement sur la santé artérielle.

7 RÉFÉRENCES

- 123bio.net: Biologie et Recherche. (s. d.). Consulté 13 septembre 2019, à l'adresse <http://www.123bio.net/>
- Adorni, M. P., Zimetti, F., Billheimer, J. T., Wang, N., Rader, D. J., Phillips, M. C., & Rothblat, G. H. (2007). The roles of different pathways in the release of cholesterol from macrophages. *Journal of Lipid Research*, 48(11), 2453-2462. <https://doi.org/10.1194/jlr.M700274-JLR200>
- Aguilera, C. M., Mesa, M. D., Ramirez-Tortosa, M. C., Nestares, M. T., Ros, E., & Gil, A. (2004). Sunflower oil does not protect against LDL oxidation as virgin olive oil does in patients with peripheral vascular disease. *Clinical Nutrition (Edinburgh, Scotland)*, 23(4), 673-681. <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2003.11.005>
- Ahn, N., & Kim, K. (2016). High-density lipoprotein cholesterol (HDL-C) in cardiovascular disease: effect of exercise training. *Integrative Medicine Research*, 5(3), 212-215. <https://doi.org/10.1016/j.imr.2016.07.001>
- Anastasius, M., Kockx, M., Jessup, W., Sullivan, D., Rye, K.-A., & Kritharides, L. (2016). Cholesterol efflux capacity: An introduction for clinicians. *American Heart Journal*, 180, 54-63. <https://doi.org/10.1016/j.ahj.2016.07.005>
- Arora, S., Patra, S. K., & Saini, R. (2016). HDL-A molecule with a multi-faceted role in coronary artery disease. *Clinica Chimica Acta; International Journal of Clinical Chemistry*, 452, 66-81. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2015.10.021>
- Arsenault, B. J., Lemieux, I., Després, J.-P., Gagnon, P., Wareham, N. J., Stroes, E. S. G., ... Boekholdt, S. M. (2009). HDL particle size and the risk of coronary heart disease in apparently healthy men and women: The EPIC-Norfolk prospective population study. *Atherosclerosis*, 206(1), 276-281. <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2009.01.044>
- Arsenault, B. J., Rana, J. S., Stroes, E. S. G., Després, J.-P., Shah, P. K., Kastelein, J. J. P., ... Khaw, K.-T. (2009). Beyond Low-Density Lipoprotein Cholesterol: Respective Contributions of Non-High-Density Lipoprotein Cholesterol Levels, Triglycerides, and the Total Cholesterol/High-Density Lipoprotein Cholesterol Ratio to Coronary Heart Disease Risk in Apparently Healthy Men and Women. *Journal of the American College of Cardiology*, 55(1), 35-41. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2009.07.057>
- Asgary, S., Kelishadi, R., Rafieian-Kopaei, M., Najafi, S., Najafi, M., & Sahebkar, A. (2013). Investigation of the lipid-modifying and antiinflammatory effects of Cornus mas L. supplementation on dyslipidemic children and adolescents. *Pediatric Cardiology*, 34(7), 1729-1735. <https://doi.org/10.1007/s00246-013-0693-5>
- Asgary, S., Sahebkar, A., Afshani, M. R., Keshvari, M., Haghooyjavanmard, S., & Rafieian-Kopaei, M. (2014). Clinical evaluation of blood pressure lowering, endothelial function improving, hypolipidemic and anti-inflammatory effects of pomegranate juice in hypertensive subjects. *Phytotherapy Research: PTR*, 28(2), 193-199. <https://doi.org/10.1002/ptr.4977>
- Atmeh, R. F., & Abd Elrazeq, I. O. (2005). Small high density lipoprotein subclasses: some of their physico-chemical properties and stability in solution. *Acta Biochimica Polonica*, 52(2), 515-525.
- Baldán, Á., Bojanic, D. D., & Edwards, P. A. (2009). The ABCs of sterol transport. *Journal of Lipid Research*, 50(Suppl), S80-S85. <https://doi.org/10.1194/jlr.R800044-JLR200>
- Barter, P. J., Caulfield, M., Eriksson, M., Grundy, S. M., Kastelein, J. J. P., Komajda, M., ... ILLUMINATE Investigators. (2007). Effects of torcetrapib in patients at high risk for coronary events. *The New England Journal of Medicine*, 357(21), 2109-2122. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa0706628>
- Barter, P. J., Nicholls, S. J., Kastelein, J. J. P., & Rye, K.-A. (2015). Is Cholesteryl Ester Transfer Protein Inhibition an Effective Strategy to Reduce Cardiovascular Risk? CETP Inhibition as a Strategy to Reduce Cardiovascular Risk: The Pro Case. *Circulation*, 132(5), 423-432. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.114.014025>

- Barter, P. J., Nicholls, S., Rye, K.-A., Anantharamaiah, G. M., Navab, M., & Fogelman, A. M. (2004). Antiinflammatory properties of HDL. *Circulation Research*, 95(8), 764-772. <https://doi.org/10.1161/01.RES.0000146094.59640.13>
- Barter, P. J., & Rye, K.-A. (2012). Cholesteryl ester transfer protein inhibition as a strategy to reduce cardiovascular risk. *Journal of Lipid Research*, 53(9), 1755-1766. <https://doi.org/10.1194/jlr.R024075>
- Barter, P., & Rye, K.-A. (2014). *Plasma Lipids and Their Role in Disease*. CRC Press.
- Berrougui, H., Cloutier, M., Isabelle, M., & Khalil, A. (2006). Phenolic-extract from argan oil (*Argania spinosa* L.) inhibits human low-density lipoprotein (LDL) oxidation and enhances cholesterol efflux from human THP-1 macrophages. *Atherosclerosis*, 184(2), 389-396. <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2005.05.018>
- Berrougui, H., Ikhlef, S., & Khalil, A. (2015). Extra Virgin Olive Oil Polyphenols Promote Cholesterol Efflux and Improve HDL Functionality. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine: ECAM*, 2015, 208062. <https://doi.org/10.1155/2015/208062>
- Berrougui, H., Isabelle, M., Cloutier, M., Grenier, G., & Khalil, A. (2007). Age-related impairment of HDL-mediated cholesterol efflux. *Journal of Lipid Research*, 48(2), 328-336. <https://doi.org/10.1194/jlr.M600167-JLR200>
- Bianco, A., Coccioli, F., Guiso, M., & Marra, C. (2002). The occurrence in olive oil of a new class of phenolic compounds: hydroxy-isochromans. *Food Chemistry*, 77(4), 405-411. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(01\)00366-1](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(01)00366-1)
- Blanchard, C., Moreau, F., Cariou, B., & May, C. L. (2014). L'excrétion trans-intestinale de cholestérol (TICE) - Une nouvelle voie d'épuration du cholestérol plasmatique. *médecine/sciences*, 30(10), 896-901. <https://doi.org/10.1051/medsci/20143010017>
- Bodzioch, M., Orsó, E., Klucken, J., Langmann, T., Böttcher, A., Diederich, W., ... Schmitz, G. (1999). The gene encoding ATP-binding cassette transporter 1 is mutated in Tangier disease. *Nature Genetics*, 22(4), 347-351. <https://doi.org/10.1038/11914>
- Bonnefont-Rousselot, D., Motta, C., Khalil, A. O., Sola, R., La Ville, A. E., Delattre, J., & Gardès-Albert, M. (1995). Physicochemical changes in human high-density lipoproteins (HDL) oxidized by gamma radiolysis-generated oxyradicals. Effect on their cholesterol effluxing capacity. *Biochimica Et Biophysica Acta*, 1255(1), 23-30.
- Bonnet, J. (2005). Athérosclérose. *EMC - Cardiologie-Angéiologie*, 2(4), 436-458. <https://doi.org/10.1016/j.emcaa.2005.09.011>
- Borggreve, S. E., De Vries, R., & Dullaart, R. P. F. (2003). Alterations in high-density lipoprotein metabolism and reverse cholesterol transport in insulin resistance and type 2 diabetes mellitus: role of lipolytic enzymes, lecithin:cholesterol acyltransferase and lipid transfer proteins. *European Journal of Clinical Investigation*, 33(12), 1051-1069.
- Bortnick, A. E., Rothblat, G. H., Stoudt, G., Hoppe, K. L., Royer, L. J., McNeish, J., & Francone, O. L. (2000). The correlation of ATP-binding cassette 1 mRNA levels with cholesterol efflux from various cell lines. *The Journal of Biological Chemistry*, 275(37), 28634-28640. <https://doi.org/10.1074/jbc.M003407200>
- Bourassa, M. G., & Tardif, J.-C. (2006). *Antioxidants and Cardiovascular Disease*. Springer Science & Business Media.
- Brites, F., Martin, M., Guillas, I., & Kontush, A. (2017). Antioxidative activity of high-density lipoprotein (HDL): Mechanistic insights into potential clinical benefit. *BBA Clinical*, 8, 66-77. <https://doi.org/10.1016/j.bbacli.2017.07.002>
- Brown, M. L., Inazu, A., Hesler, C. B., Agellon, L. B., Mann, C., Whitlock, M. E., ... Mabuchi, H. (1989). Molecular basis of lipid transfer protein deficiency in a family with increased high-density lipoproteins. *Nature*, 342(6248), 448-451. <https://doi.org/10.1038/342448a0>
- Brunner, E., & Iso, H. (2008). Fish oil and secondary prevention of cardiovascular disease. *BMJ (Clinical Research Ed.)*, 337, a2541. <https://doi.org/10.1136/bmj.a2541>

- Buchholz, A. C., & Bugaresti, J. M. (2005). A review of body mass index and waist circumference as markers of obesity and coronary heart disease risk in persons with chronic spinal cord injury. *Spinal Cord*, 43(9), 513-518. (15824757).
- Bulló, M., Castañer, O., Ros, E., Sáez, G., Toledo, E., Estruch, R., ... Moreno, J. (2017). A Mediterranean diet supplemented with extra virgin olive oil or nuts improves endothelial markers involved in blood pressure control in hypertensive women. *European Journal of Nutrition*, 56(1), 89-97. <https://doi.org/10.1007/s00394-015-1060-5>
- Camont, L., Chapman, J., & Kontush, A. (2011). Functionality of HDL particles: Heterogeneity and relationships to cardiovascular disease. *Archives of Cardiovascular Diseases Supplements*, 3(4), 258-266. [https://doi.org/10.1016/S1878-6480\(11\)70784-4](https://doi.org/10.1016/S1878-6480(11)70784-4)
- Camont, Laurent, Chapman, M. J., & Kontush, A. (2011). Biological activities of HDL subpopulations and their relevance to cardiovascular disease. *Trends in Molecular Medicine*, 17(10), 594-603. <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2011.05.013>
- Canada, P. H. A. of. (2017, mai 16). Heart diseases and conditions [Education and awareness]. Consulté 27 juin 2019, à l'adresse aem website: <https://www.canada.ca/en/public-health/services/diseases/heart-health/heart-diseases-conditions.html>
- Cardiovascular diseases (CVDs). (2015). Consulté 6 juin 2018, à l'adresse World Health Organization website: [http://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-\(cvds\)](http://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-(cvds))
- Carluccio, M. A., Massaro, M., Scoditti, E., & Caterina, R. D. (2007). Vasculoprotective potential of olive oil components. *Molecular Nutrition & Food Research*, 51(10), 1225-1234. <https://doi.org/10.1002/mnfr.200600305>
- Castelli, W. P., Garrison, R. J., Wilson, P. W. F., Abbott, R. D., Kalousdian, S., & Kannel, W. B. (1986). Incidence of Coronary Heart Disease and Lipoprotein Cholesterol Levels: The Framingham Study. *JAMA*, 256(20), 2835-2838. <https://doi.org/10.1001/jama.1986.03380200073024>
- Chapman, M. J., Ginsberg, H. N., Amarengo, P., Andreotti, F., Borén, J., Catapano, A. L., ... European Atherosclerosis Society Consensus Panel. (2011). Triglyceride-rich lipoproteins and high-density lipoprotein cholesterol in patients at high risk of cardiovascular disease: evidence and guidance for management. *European Heart Journal*, 32(11), 1345-1361. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehrl112>
- Chen, N., & Frishman, W. H. (2016). High-Density Lipoprotein Infusion Therapy and Atherosclerosis: Current Research and Future Directions. *Cardiology in Review*, 24(6), 298-302. <https://doi.org/10.1097/CRD.0000000000000111>
- Cherki, M., Derouiche, A., Drissi, A., El Messal, M., Bamou, Y., Idrissi-Ouadghiri, A., ... Adlouni, A. (2005). Consumption of argan oil may have an antiatherogenic effect by improving paraoxonase activities and antioxidant status: Intervention study in healthy men. *Nutrition, Metabolism, and Cardiovascular Diseases: NMCD*, 15(5), 352-360. <https://doi.org/10.1016/j.numecd.2004.08.005>
- Chistiakov, D. A., Melnichenko, A. A., Orekhov, A. N., & Bobryshev, Y. V. (2017). Paraoxonase and atherosclerosis-related cardiovascular diseases. *Biochimie*, 132, 19-27. <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2016.10.010>
- Choi, H. Y., Hafiane, A., Schwertani, A., & Genest, J. (2017). High-Density Lipoproteins: Biology, Epidemiology, and Clinical Management. *The Canadian Journal of Cardiology*, 33(3), 325-333. <https://doi.org/10.1016/j.cjca.2016.09.012>
- Cortés, B., Núñez, I., Cofán, M., Gilabert, R., Pérez-Heras, A., Casals, E., ... Ros, E. (2006). Acute effects of high-fat meals enriched with walnuts or olive oil on postprandial endothelial function. *Journal of the American College of Cardiology*, 48(8), 1666-1671. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2006.06.057>
- Covas, M.-I., de la Torre, K., Farré-Albaladejo, M., Kaikkonen, J., Fitó, M., López-Sabater, C., ... de la Torre, R. (2006). Postprandial LDL phenolic content and LDL oxidation are modulated

- by olive oil phenolic compounds in humans. *Free Radical Biology & Medicine*, 40(4), 608-616. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2005.09.027>
- Covas, M.-I., de la Torre, R., & Fitó, M. (2015). Virgin olive oil: a key food for cardiovascular risk protection. *The British Journal of Nutrition*, 113 Suppl 2, S19-28. <https://doi.org/10.1017/S0007114515000136>
- Covas, M.-I., Nyssönen, K., Poulsen, H. E., Kaikkonen, J., Zunft, H.-J. F., Kiesewetter, H., ... EUROLIVE Study Group. (2006). The effect of polyphenols in olive oil on heart disease risk factors: a randomized trial. *Annals of Internal Medicine*, 145(5), 333-341.
- Crimmins, E. M. (2004). Trends in the health of the elderly. *Annual Review of Public Health*, 25, 79-98. <https://doi.org/10.1146/annurev.publhealth.25.102802.124401>
- Cuchel, M., Raper, A. C., Conlon, D. M., Pryma, D. A., Freifelder, R. H., Poria, R., ... Rader, D. J. (2017). A novel approach to measuring macrophage-specific reverse cholesterol transport in vivo in humans. *Journal of Lipid Research*, 58(4), 752-762. <https://doi.org/10.1194/jlr.M075226>
- Cui, J. Y., Zhou, R. R., Han, S., Wang, T. S., Wang, L. Q., & Xie, X. H. (2018). Statin therapy on glycemic control in type 2 diabetic patients: A network meta-analysis. *Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics*, 43(4), 556-570. <https://doi.org/10.1111/jcpt.12690>
- David Curb, J., Overturf, M. L., & Harrist, R. B. (1980). Lability of HDL-cholesterol during serum storage. *Atherosclerosis*, 37(4), 641-645. [https://doi.org/10.1016/0021-9150\(80\)90072-6](https://doi.org/10.1016/0021-9150(80)90072-6)
- Dénominations et définitions des huiles d'olive - International Olive Council. (s. d.). Consulté 26 avril 2019, à l'adresse http://www.internationaloliveoil.org/estaticos/view/83-designations-and-definitions-of-olive-oils?lang=fr_FR
- Dhingra, R., & Vasan, R. S. (2012). Age as a Cardiovascular Risk Factor. *The Medical Clinics of North America*, 96(1), 87-91. <https://doi.org/10.1016/j.mcna.2011.11.003>
- Di Angelantonio, E., Sarwar, N., Perry, P., Kaptoge, S., Ray, K. K., Thompson, A., ... Danesh, J. (2009). Major lipids, apolipoproteins, and risk of vascular disease. *JAMA - Journal of the American Medical Association*, 302(18), 1993-2000. <https://doi.org/10.1001/jama.2009.1619>
- Downs, J. R., Clearfield, M., Weis, S., Whitney, E., Shapiro, D. R., Beere, P. A., ... Gotto, A. M. (1998). Primary prevention of acute coronary events with lovastatin in men and women with average cholesterol levels: results of AFCAPS/TexCAPS. Air Force/Texas Coronary Atherosclerosis Prevention Study. *JAMA*, 279(20), 1615-1622.
- Du, X.-M., Kim, M.-J., Hou, L., Le Goff, W., Chapman, M. J., Van Eck, M., ... Jessup, W. (2015). HDL particle size is a critical determinant of ABCA1-mediated macrophage cellular cholesterol export. *Circulation Research*, 116(7), 1133-1142. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.116.305485>
- Duong, M., Di Bartolo, B. A., & Nicholls, S. J. (2015). Acute high-density lipoprotein therapies. *Current Opinion in Lipidology*, 26(6), 521-525. <https://doi.org/10.1097/MOL.0000000000000235>
- El Khoudary, S. R., Hutchins, P. M., Matthews, K. A., Brooks, M. M., Orchard, T. J., Ronsein, G. E., & Heinecke, J. W. (2016). Cholesterol Efflux Capacity and Subclasses of HDL Particles in Healthy Women Transitioning Through Menopause. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 101(9), 3419-3428. <https://doi.org/10.1210/jc.2016-2144>
- Estimations démographiques annuelles : Canada, provinces et territoires, 2018. (2018). (91), 68.
- Estruch, R., Ros, E., Salas-Salvadó, J., Covas, M.-I., Corella, D., Arós, F., ... PREDIMED Study Investigators. (2013). Primary prevention of cardiovascular disease with a Mediterranean diet. *The New England Journal of Medicine*, 368(14), 1279-1290. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1200303>
- Expert Panel on Detection, E. (2001). Executive Summary of the Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and

- Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). *JAMA*, 285(19), 2486-2497. <https://doi.org/10.1001/jama.285.19.2486>
- Eyvazian, V. A., & Frishman, W. H. (2017). Evacetrapib: Another CETP Inhibitor for Dyslipidemia With No Clinical Benefit. *Cardiology in Review*, 25(2), 43-52. <https://doi.org/10.1097/CRD.000000000000137>
- Farràs, M., Castañer, O., Martín-Peláez, S., Hernáez, Á., Schröder, H., Subirana, I., ... Fitó, M. (2015). Complementary phenol-enriched olive oil improves HDL characteristics in hypercholesterolemic subjects. A randomized, double-blind, crossover, controlled trial. The VOHF study. *Molecular Nutrition & Food Research*, 59(9), 1758-1770. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201500030>
- Favari, E., Calabresi, L., Adorni, M. P., Jessup, W., Simonelli, S., Franceschini, G., & Bernini, F. (2009). Small Discoidal Pre- β 1 HDL Particles Are Efficient Acceptors of Cell Cholesterol via ABCA1 and ABCG1. *Biochemistry*, 48(46), 11067-11074. <https://doi.org/10.1021/bi901564g>
- Favari, E., Chroni, A., Tietge, U. J. F., Zanutti, I., Escolà-Gil, J. C., & Bernini, F. (2015). Cholesterol Efflux and Reverse Cholesterol Transport. In *Handbook of Experimental Pharmacology. High Density Lipoproteins* (p. 181-206). https://doi.org/10.1007/978-3-319-09665-0_4
- FDA Allows Qualified Health Claim to Decrease Risk of Coronary Heart Disease. (2004, octobre 31). Consulté 25 avril 2018, à l'adresse New Hope Network website: <http://www.newhope.com/supply-news-amp-analysis/fda-allows-qualified-health-claim-decrease-risk-coronary-heart-disease>
- Fernández-Castillejo, S., Rubió, L., Hernáez, Á., Catalán, Ú., Pedret, A., Valls, R.-M., ... Solá, R. (s. d.). Determinants of HDL Cholesterol Efflux Capacity after Virgin Olive Oil Ingestion: Interrelationships with Fluidity of HDL Monolayer. *Molecular Nutrition & Food Research*, 61(12), 1700445. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201700445>
- Fielding, C. J., & Fielding, P. E. (1981). Evidence for a lipoprotein carrier in human plasma catalyzing sterol efflux from cultured fibroblasts and its relationship to lecithin:cholesterol acyltransferase. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 78(6), 3911-3914. <https://doi.org/10.1073/pnas.78.6.3911>
- Fisher, E. A., Feig, J. E., Hewing, B., Hazen, S. L., & Smith, J. D. (2012). High-density lipoprotein function, dysfunction, and reverse cholesterol transport. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 32(12), 2813-2820. <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.112.300133>
- Fitó, M., Cladellas, M., de la Torre, R., Martí, J., Alcántara, M., Pujadas-Bastardes, M., ... Covas, M. I. (2005). Antioxidant effect of virgin olive oil in patients with stable coronary heart disease: a randomized, crossover, controlled, clinical trial. *Atherosclerosis*, 181(1), 149-158. <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2004.12.036>
- Fitó, M., De la Torre, R., Farré-Albaladejo, M., & Khymenetz, O. (2007). Bioavailability and antioxidant effects of olive oil phenolic compounds in humans: A review. *An Sist Sanit Navar*, 31, 375-381. Consulté à l'adresse Scopus.
- Fitzgerald, M. L., Morris, A. L., Rhee, J. S., Andersson, L. P., Mendez, A. J., & Freeman, M. W. (2002). Naturally occurring mutations in the largest extracellular loops of ABCA1 can disrupt its direct interaction with apolipoprotein A-I. *The Journal of Biological Chemistry*, 277(36), 33178-33187. <https://doi.org/10.1074/jbc.M204996200>
- Forrest, M. J., Bloomfield, D., Briscoe, R. J., Brown, P. N., Cumiskey, A.-M., Ehrhart, J., ... Woltmann, R. F. (2008). Torcetrapib-induced blood pressure elevation is independent of CETP inhibition and is accompanied by increased circulating levels of aldosterone. *British Journal of Pharmacology*, 154(7), 1465-1473. <https://doi.org/10.1038/bjp.2008.229>
- Fountoulakis, P., Oikonomou, E., Lazaros, G., & Tousoulis, D. (2018). Chapter 1.2 - Endothelial Function. In D. Tousoulis (Éd.), *Coronary Artery Disease* (p. 13-30). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811908-2.00002-7>

- Francisco J. Félix-Redondo, M. G., & Francisco J. Félix-Redondo, M. G. (2013). Cholesterol and Cardiovascular Disease in the Elderly. Facts and Gaps. *Aging and Disease*, 4(3), 154-169.
- Freund, K. M., Jacobs, A. K., Pechacek, J. A., White, H. F., & Ash, A. S. (2011). Disparities by Race, Ethnicity, and Sex in Treating Acute Coronary Syndromes. *Journal of Women's Health*, 21(2), 126-132. <https://doi.org/10.1089/jwh.2010.2580>
- Gagné, C., Université Laval, & Centre de recherche sur les maladies lipidiques. (1994). *Les dyslipoprotéïnémies: l'approche clinique*. Sainte-Foy, Québec: Centre de recherche sur les maladies lipidiques, Centre hospitalier de l'Université Laval.
- Galvão Cândido, F., Xavier Valente, F., da Silva, L. E., Gonçalves Leão Coelho, O., Gouveia Peluzio, M. do C., & Gonçalves Alfenas, R. de C. (2018). Consumption of extra virgin olive oil improves body composition and blood pressure in women with excess body fat: a randomized, double-blinded, placebo-controlled clinical trial. *European Journal of Nutrition*, 57(7), 2445-2455. <https://doi.org/10.1007/s00394-017-1517-9>
- Gautier, T., Masson, D., & Lagrost, L. (2011). Métabolisme des lipoprotéines de haute densité (HDL). *Archives of Cardiovascular Diseases Supplements*, 3(4), 267-272. [https://doi.org/10.1016/S1878-6480\(11\)70785-6](https://doi.org/10.1016/S1878-6480(11)70785-6)
- Genest, J. (2003). Lipoprotein disorders and cardiovascular risk. *J. Inherit. Metab. Dis.*, 21.
- Genest, Jacques, McPherson, R., Frohlich, J., Anderson, T., Campbell, N., Carpentier, A., ... Ur, E. (2009). 2009 Canadian Cardiovascular Society/Canadian guidelines for the diagnosis and treatment of dyslipidemia and prevention of cardiovascular disease in the adult – 2009 recommendations. *The Canadian Journal of Cardiology*, 25(10), 567-579.
- Ghaffari, M. A., & Ghiasvand, T. (2010). Kinetic study of low density lipoprotein oxidation by copper. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 25(1), 29-36. <https://doi.org/10.1007/s12291-010-0006-1>
- Glomset, J. A. (1968). The plasma lecithins:cholesterol acyltransferase reaction. *Journal of Lipid Research*, 9(2), 155-167.
- Gordon, T., Castelli, W. P., Hjortland, M. C., Kannel, W. B., & Dawber, T. R. (1977). High density lipoprotein as a protective factor against coronary heart disease. The Framingham Study. *The American Journal of Medicine*, 62(5), 707-714. [https://doi.org/10.1016/0002-9343\(77\)90874-9](https://doi.org/10.1016/0002-9343(77)90874-9)
- Gorzynik-Debicka, M., Przychodzen, P., Cappello, F., Kuban-Jankowska, A., Marino Gammazza, A., Knap, N., ... Gorska-Ponikowska, M. (2018). Potential Health Benefits of Olive Oil and Plant Polyphenols. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(3). <https://doi.org/10.3390/ijms19030686>
- Gotto, A. M., & Brinton, E. A. (2004). Assessing low levels of high-density lipoprotein cholesterol as a risk factor in coronary heart disease: a working group report and update. *Journal of the American College of Cardiology*, 43(5), 717-724. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2003.08.061>
- Gouvernement du Canada, S. C. (2014, janvier 27). Les dix principales causes de décès, 2011. Consulté 4 juin 2018, à l'adresse <https://www150.statcan.gc.ca/n1/pub/82-625-x/2014001/article/11896-fra.htm>
- Grundey, S. M., & Denke, M. A. (1990). Dietary influences on serum lipids and lipoproteins. *Journal of Lipid Research*, 31(7), 1149-1172.
- Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J.-O., Charlier, C., & Chapelle, J.-P. (2007). Le stress oxydant. *Revue Médicale de Liège*, 62(10). Consulté à l'adresse <https://orbi.uliege.be/handle/2268/8914>
- Hankey, G. J. (1999). Smoking and risk of stroke. *Journal of Cardiovascular Risk*, 6(4), 207-211.
- Harman, D. (1956). Aging: A Theory Based on Free Radical and Radiation Chemistry. *Journal of Gerontology*, 11(3), 298-300. <https://doi.org/10.1093/geronj/11.3.298>
- Heart Protection Study Collaborative Group. (2002). MRC/BHF Heart Protection Study of cholesterol lowering with simvastatin in 20,536 high-risk individuals: a randomised placebo-

- controlled trial. *Lancet (London, England)*, 360(9326), 7-22. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(02\)09327-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(02)09327-3)
- Helal, O., Berrougui, H., Loued, S., & Khalil, A. (2013). Extra-virgin olive oil consumption improves the capacity of HDL to mediate cholesterol efflux and increases ABCA1 and ABCG1 expression in human macrophages. *The British Journal of Nutrition*, 109(10), 1844-1855. <https://doi.org/10.1017/S0007114512003856>
- Hernaiz, A. a, Farras, M. a, & Fito, M. a. (2016). Olive oil phenolic compounds and high-density lipoprotein function. [Miscellaneous Article]. *Current Opinion in Lipidology*, 27(1), 47-53. <https://doi.org/10.1097/MOL.0000000000000261>
- Hernández, Á., Castañer, O., Elosua, R., Pintó, X., Estruch, R., Salas-Salvadó, J., ... Fitó, M. (2017). Mediterranean Diet Improves High-Density Lipoprotein Function in High-Cardiovascular-Risk Individuals: A Randomized Controlled Trial. *Circulation*, 135(7), 633-643. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.116.023712>
- Hernández, Á., Fernández-Castillejo, S., Farràs, M., Catalán, Ú., Subirana, I., Montes, R., ... Fitó, M. (2014). Olive oil polyphenols enhance high-density lipoprotein function in humans: a randomized controlled trial. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 34(9), 2115-2119. <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.114.303374>
- Hoefner, D. M., Hodel, S. D., O'Brien, J. F., Branum, E. L., Sun, D., Meissner, I., & McConnell, J. P. (2001). Development of a rapid, quantitative method for LDL subfractionation with use of the Quantimetrix Lipoprint LDL System. *Clinical Chemistry*, 47(2), 266-274.
- Hohmann, C. D., Cramer, H., Michalsen, A., Kessler, C., Steckhan, N., Choi, K., & Dobos, G. (2015). Effects of high phenolic olive oil on cardiovascular risk factors: A systematic review and meta-analysis. *Phytomedicine: International Journal of Phytotherapy and Phytopharmacology*, 22(6), 631-640. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2015.03.019>
- Holy, E. W., Besler, C., Reiner, M. F., Camici, G. G., Manz, J., Beer, J. H., ... Tanner, F. C. (2014). High-density lipoprotein from patients with coronary heart disease loses anti-thrombotic effects on endothelial cells: impact on arterial thrombus formation. *Thrombosis and Haemostasis*, 112(5), 1024-1035. <https://doi.org/10.1160/TH13-09-0775>
- Holzer, M., Trieb, M., Konya, V., Wadsack, C., Heinemann, A., & Marsche, G. (2013). Aging affects high-density lipoprotein composition and function. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids*, 1831(9), 1442-1448. <https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2013.06.004>
- Hu, F. B. (2003). The Mediterranean Diet and Mortality — Olive Oil and Beyond. *New England Journal of Medicine*, 348(26), 2595-2596. <https://doi.org/10.1056/NEJMp030069>
- Hu, X., Dietz, J. D., Xia, C., Knight, D. R., Loging, W. T., Smith, A. H., ... Keiser, J. (2009). Torcetrapib induces aldosterone and cortisol production by an intracellular calcium-mediated mechanism independently of cholesteryl ester transfer protein inhibition. *Endocrinology*, 150(5), 2211-2219. <https://doi.org/10.1210/en.2008-1512>
- Jackson, G. (2008). *Les maladies cardiaques : la santé de votre coeur au quotidien*. Paris : Éditions du Dauphin, c2008. (Bibliothèque des sciences de la santé WG 113 J3314 2008).
- Jaouad, L., de Guise, C., Berrougui, H., Cloutier, M., Isabelle, M., Fulop, T., ... Khalil, A. (2006). Age-related decrease in high-density lipoproteins antioxidant activity is due to an alteration in the PON1's free sulfhydryl groups. *Atherosclerosis*, 185(1), 191-200. <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2005.06.012>
- Ji, Y., Jian, B., Wang, N., Sun, Y., Moya, M. L., Phillips, M. C., ... Tall, A. R. (1997). Scavenger receptor BI promotes high density lipoprotein-mediated cellular cholesterol efflux. *The Journal of Biological Chemistry*, 272(34), 20982-20985. <https://doi.org/10.1074/jbc.272.34.20982>
- Kalogeropoulou, N., & Tsimidou, M. Z. (2014). Antioxidants in Greek Virgin Olive Oils. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, 3(2), 387-413. <https://doi.org/10.3390/antiox3020387>

- Kathiresan, S., Otvos, J. D., Sullivan, L. M., Keyes, M. J., Schaefer, E. J., Wilson, P. W. F., ... Robins, S. J. (2006). Increased small low-density lipoprotein particle number: a prominent feature of the metabolic syndrome in the Framingham Heart Study. *Circulation*, 113(1), 20-29. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.105.567107>
- Keys Ancel, Taylor Henry Longstreet, Blackburn Henry, Brozek Josef, Anderson Joseph T., & Simonson Ernst. (1963). Coronary Heart Disease among Minnesota Business and Professional Men Followed Fifteen Years. *Circulation*, 28(3), 381-395. <https://doi.org/10.1161/01.CIR.28.3.381>
- Khera, A. V., Cuchel, M., de la Llera-Moya, M., Rodrigues, A., Burke, M. F., Jafri, K., ... Rader, D. J. (2011). Cholesterol efflux capacity, high-density lipoprotein function, and atherosclerosis. *The New England Journal of Medicine*, 364(2), 127-135. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1001689>
- Kim, D. S., Li, Y. K., Bell, G. A., Burt, A. A., Vaisar, T., Hutchins, P. M., ... Jarvik, G. P. (2016). Concentration of Smaller High-Density Lipoprotein Particle (HDL-P) Is Inversely Correlated With Carotid Intima Media Thickening After Confounder Adjustment: The Multi Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA). *Journal of the American Heart Association*, 5(5). <https://doi.org/10.1161/JAHA.115.002977>
- Kontush, A., & Chapman, M. J. (2006). Functionally defective high-density lipoprotein: a new therapeutic target at the crossroads of dyslipidemia, inflammation, and atherosclerosis. *Pharmacological Reviews*, 58(3), 342-374. <https://doi.org/10.1124/pr.58.3.1>
- Leblanc, V., Hudon, A.-M., Royer, M.-M., Corneau, L., Dodin, S., Bégin, C., & Lemieux, S. (2015). Differences between men and women in dietary intakes and metabolic profile in response to a 12-week nutritional intervention promoting the Mediterranean diet. *Journal of Nutritional Science*, 4. <https://doi.org/10.1017/jns.2015.2>
- Liang, H. Q., Rye, K. A., & Barter, P. J. (1996). Remodelling of reconstituted high density lipoproteins by lecithin: cholesterol acyltransferase. *Journal of Lipid Research*, 37(9), 1962-1970.
- Libby, P. (2002). Inflammation in atherosclerosis. *Nature*, 420(6917), 868-874. <https://doi.org/10.1038/nature01323>
- López-Miranda, J., Pérez-Jiménez, F., Ros, E., De Caterina, R., Badimón, L., Covas, M. I., ... Yiannakouris, N. (2010). Olive oil and health: summary of the II international conference on olive oil and health consensus report, Jaén and Córdoba (Spain) 2008. *Nutrition, Metabolism, and Cardiovascular Diseases: NMCD*, 20(4), 284-294. <https://doi.org/10.1016/j.numecd.2009.12.007>
- Loued, S., Berrougui, H., Componova, P., Ikhlef, S., Helal, O., & Khalil, A. (2013). Extra-virgin olive oil consumption reduces the age-related decrease in HDL and paraoxonase 1 anti-inflammatory activities. *The British Journal of Nutrition*, 110(7), 1272-1284. <https://doi.org/10.1017/S0007114513000482>
- Luc, G., Bard, J. M., Lussier-Cacan, S., Bouthillier, D., Parra, H. J., Fruchart, J. C., & Davignon, J. (1991). High-density lipoprotein particles in octogenarians. *Metabolism*, 40(12), 1238-1243. [https://doi.org/10.1016/0026-0495\(91\)90022-O](https://doi.org/10.1016/0026-0495(91)90022-O)
- Majeed, F., & Miller, M. (2008). Low high-density lipoprotein cholesterol: an important consideration in coronary heart disease risk assessment. *Current Opinion in Endocrinology, Diabetes, and Obesity*, 15(2), 175-181. <https://doi.org/10.1097/MED.0b013e3282f79b0b>
- Mao, S., & Huang, S. (2014). Statins use and the risk of acute kidney injury: a meta-analysis. *Renal Failure*, 36(4), 651-657. <https://doi.org/10.3109/0886022X.2014.882715>
- Martín-Peláez, S., Covas, M. I., Fitó, M., Kušar, A., & Pravst, I. (2013). Health effects of olive oil polyphenols: Recent advances and possibilities for the use of health claims. *Molecular Nutrition & Food Research*, 57(5), 760-771. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201200421>

- Mathieu Patrick, Poirier Paul, Pibarot Philippe, Lemieux Isabelle, & Després Jean-Pierre. (2009). Visceral Obesity. *Hypertension*, 53(4), 577-584. <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.108.110320>
- Member, S. (s. d.). Measuring Obesity. Consulté 12 novembre 2019, à l'adresse Obesity Canada website: <https://obesitycanada.ca/managing-obesity/measuring-obesity/>
- Mensink, R. P., & Katan, M. B. (1992). Effect of dietary fatty acids on serum lipids and lipoproteins. A meta-analysis of 27 trials. *Arteriosclerosis and Thrombosis: A Journal of Vascular Biology*, 12(8), 911-919.
- Migdal, C., & Serres, M. (2011). Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant. *médecine/sciences*, 27(4), 405-412. <https://doi.org/10.1051/medsci/2011274017>
- Moreno-Luna, R., Muñoz-Hernandez, R., Miranda, M. L., Costa, A. F., Jimenez-Jimenez, L., Vallejo-Vaz, A. J., ... Stiefel, P. (2012). Olive oil polyphenols decrease blood pressure and improve endothelial function in young women with mild hypertension. *American Journal of Hypertension*, 25(12), 1299-1304. <https://doi.org/10.1038/ajh.2012.128>
- Mutharasan, R. K., Thaxton, C. S., Berry, J., Daviglus, M. L., Yuan, C., Sun, J., ... Wilkins, J. T. (2017). HDL efflux capacity, HDL particle size, and high-risk carotid atherosclerosis in a cohort of asymptomatic older adults: the Chicago Healthy Aging Study. *Journal of Lipid Research*, 58(3), 600-606. <https://doi.org/10.1194/jlr.P069039>
- Navab, M., Ananthramaiah, G. M., Reddy, S. T., Van Lenten, B. J., Ansell, B. J., Fonarow, G. C., ... Fogelman, A. M. (2004). The oxidation hypothesis of atherogenesis: the role of oxidized phospholipids and HDL. *Journal of Lipid Research*, 45(6), 993-1007. <https://doi.org/10.1194/jlr.R400001-JLR200>
- Negre-Salvayre, A., Dousset, N., Ferretti, G., Bacchetti, T., Curatola, G., & Salvayre, R. (2006). Antioxidant and cytoprotective properties of high-density lipoproteins in vascular cells. *Free Radical Biology & Medicine*, 41(7), 1031-1040. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2006.07.006>
- Oikonomou, E., Latsios, G., Vogiatzi, G., & Tousoulis, D. (2018a). Chapter 1.3 - Atherosclerotic Plaque. In D. Tousoulis (Éd.), *Coronary Artery Disease* (p. 31-41). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811908-2.00003-9>
- Oikonomou, E., Latsios, G., Vogiatzi, G., & Tousoulis, D. (2018b). Chapter 1.3 - Atherosclerotic Plaque. In D. Tousoulis (Éd.), *Coronary Artery Disease* (p. 31-41). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811908-2.00003-9>
- Oikonomou, E., Tsalamandris, S., Mourouzis, K., & Tousoulis, D. (2018). Chapter 1.1 - Biology of the Vessel Wall. In D. Tousoulis (Éd.), *Coronary Artery Disease* (p. 3-12). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811908-2.00001-5>
- Oliveras-López, M.-J., Molina, J. J. M., Mir, M. V., Rey, E. F., Martín, F., & de la Serrana, H. L.-G. (2013). Extra virgin olive oil (EVOO) consumption and antioxidant status in healthy institutionalized elderly humans. *Archives of Gerontology and Geriatrics*, 57(2), 234-242. <https://doi.org/10.1016/j.archger.2013.04.002>
- Ordovas, J. M., Kaput, J., & Corella, D. (2007). Nutrition in the genomics era: cardiovascular disease risk and the Mediterranean diet. *Molecular Nutrition & Food Research*, 51(10), 1293-1299. <https://doi.org/10.1002/mnfr.200700041>
- Ortiz-Munoz, G., Couret, D., Lapergue, B., Bruckert, E., Meseguer, E., Amarenco, P., & Meilhac, O. (2016). Dysfunctional HDL in acute stroke. *Atherosclerosis*, 253, 75-80. <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2016.08.035>
- Owen, R. W., Mier, W., Giacosa, A., Hull, W. E., Spiegelhalder, B., & Bartsch, H. (2000). Phenolic compounds and squalene in olive oils: the concentration and antioxidant potential of total phenols, simple phenols, secoiridoids, lignans and squalene. *Food and Chemical Toxicology: An International Journal Published for the British Industrial Biological Research Association*, 38(8), 647-659.

- Pedret, A., Catalán, Ú., Fernández-Castillejo, S., Farràs, M., Valls, R.-M., Rubió, L., ... Solà, R. (2015). Impact of Virgin Olive Oil and Phenol-Enriched Virgin Olive Oils on the HDL Proteome in Hypercholesterolemic Subjects: A Double Blind, Randomized, Controlled, Cross-Over Clinical Trial (VOHF Study). *PloS One*, 10(6), e0129160. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0129160>
- Perona, J. S., Cañizares, J., Montero, E., Sánchez-Domínguez, J. M., Catalá, A., & Ruiz-Gutiérrez, V. (2004). Virgin olive oil reduces blood pressure in hypertensive elderly subjects. *Clinical Nutrition*, 23(5), 1113-1121. <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2004.02.004>
- Petrie, J. R., Guzik, T. J., & Touyz, R. M. (2018). Diabetes, Hypertension, and Cardiovascular Disease: Clinical Insights and Vascular Mechanisms. *Canadian Journal of Cardiology*, 34(5), 575-584. <https://doi.org/10.1016/j.cjca.2017.12.005>
- Pirillo, A., Norata, G. D., & Catapano, A. L. (2013). High-density lipoprotein subfractions--what the clinicians need to know. *Cardiology*, 124(2), 116-125. <https://doi.org/10.1159/000346463>
- Poirier, É., Agence de la santé et des services sociaux de Laval, & Direction de santé publique. (2012). *Portrait populationnel sur les maladies cardiovasculaires*.
- Quantimetrix Shows that All HDL Subfractions May Not Protect Against Heart Disease - Quantimetrix. (s. d.). Consulté 4 juin 2019, à l'adresse <https://quantimetrix.com/quantimetrix-shows-that-all-hdl-subfractions-may-not-protect-against-heart-disease/>
- Rader, D. J., Alexander, E. T., Weibel, G. L., Billheimer, J., & Rothblat, G. H. (2009). The role of reverse cholesterol transport in animals and humans and relationship to atherosclerosis. *Journal of Lipid Research*, 50(Supplement), S189-S194. <https://doi.org/10.1194/jlr.R800088-JLR200>
- Rafieian-Kopaei, M., Setorki, M., Doudi, M., Baradaran, A., & Nasri, H. (2014). Atherosclerosis: process, indicators, risk factors and new hopes. *International Journal of Preventive Medicine*, 5(8), 927-946.
- Ramasamy, I. (2014). Recent advances in physiological lipoprotein metabolism. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, 52(12), 1695-1727. <https://doi.org/10.1515/cclm-2013-0358>
- Ramírez-Tortosa, M. C., Granados, S., & Quiles, J. L. (2006). Chemical composition, types and characteristics of olive oil. In J. L. Quiles, M. C. Ramírez-Tortosa, & P. Yaquob (Éd.), *Olive oil and health* (p. 45-62). <https://doi.org/10.1079/9781845930684.0045>
- Rohatgi, A. (2015). High-Density Lipoprotein Function Measurement in Human Studies: Focus on Cholesterol Efflux Capacity. *Progress in Cardiovascular Diseases*, 58(1), 32-40. <https://doi.org/10.1016/j.pcad.2015.05.004>
- Rohatgi, A., Khera, A., Berry, J. D., Givens, E. G., Ayers, C. R., Wedin, K. E., ... Shaul, P. W. (2014). HDL cholesterol efflux capacity and incident cardiovascular events. *The New England Journal of Medicine*, 371(25), 2383-2393. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1409065>
- Rosamond, W., Flegal, K., Furie, K., Go, A., Greenlund, K., Haase, N., ... American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee. (2008). Heart disease and stroke statistics--2008 update: a report from the American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee. *Circulation*, 117(4), e25-146. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.107.187998>
- Rosato, V., Temple, N. J., La Vecchia, C., Castellan, G., Tavani, A., & Guercio, V. (2019). Mediterranean diet and cardiovascular disease: a systematic review and meta-analysis of observational studies. *European Journal of Nutrition*, 58(1), 173-191. <https://doi.org/10.1007/s00394-017-1582-0>
- Rosenson, R. S., Brewer, H. B., Davidson, W. S., Fayad, Z. A., Fuster, V., Goldstein, J., ... Yvan-Charvet, L. (2012). Cholesterol efflux and atheroprotection: advancing the concept of reverse cholesterol transport. *Circulation*, 125(15), 1905-1919. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.111.066589>

- Rothblat, G. H., de la Llera-Moya, M., Favari, E., Yancey, P. G., & Kellner-Weibel, G. (2002). Cellular cholesterol flux studies: methodological considerations. *Atherosclerosis*, 163(1), 1-8.
- Rothblat, George H., & Phillips, M. C. (2010). High-density lipoprotein heterogeneity and function in reverse cholesterol transport. *Current Opinion in Lipidology*, 21(3), 229-238.
- Rubanyi, G. M. (1993). The role of endothelium in cardiovascular homeostasis and diseases. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*, 22 Suppl 4, S1-14.
- Shao, B., Tang, C., Heinecke, J. W., & Oram, J. F. (2010). Oxidation of apolipoprotein A-I by myeloperoxidase impairs the initial interactions with ABCA1 required for signaling and cholesterol export. *Journal of Lipid Research*, 51(7), 1849-1858. <https://doi.org/10.1194/jlr.M004085>
- Shippee, T. P., Ferraro, K. F., & Thorpe, R. J. (2011). Racial disparity in access to cardiac intensive care over 20 years. *Ethnicity & Health*, 16(2), 145-165. <https://doi.org/10.1080/13557858.2010.544292>
- Siasos, G., Tousoulis, D., Siasou, Z., Stefanadis, C., & Papavassiliou, A. G. (2007). Shear stress, protein kinases and atherosclerosis. *Current Medicinal Chemistry*, 14(14), 1567-1572.
- Sirtori, C. R., Gatti, E., Tremoli, E., Galli, C., Gianfranceschi, G., Franceschini, G., ... Stragliotto, E. (1992). Olive oil, corn oil, and n - 3 fatty acids differently affect lipids, lipoproteins, platelets, and Superoxide formation in type II hypercholesterolemia. *American Journal of Clinical Nutrition*, 56(1), 113-122.
- Siti, H. N., Kamisah, Y., & Kamsiah, J. (2015). The role of oxidative stress, antioxidants and vascular inflammation in cardiovascular disease (a review). *Vascular Pharmacology*, 71, 40-56. <https://doi.org/10.1016/j.vph.2015.03.005>
- Ski, C. F., King-Shier, K. M., & Thompson, D. R. (2014). Gender, socioeconomic and ethnic/racial disparities in cardiovascular disease: A time for change. *International Journal of Cardiology*, 170(3), 255-257. <https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2013.10.082>
- Solà, R., La Ville, A. E., Richard, J. L., Motta, C., Bargalló, M. T., Girona, J., ... Jacotot, B. (1997). Oleic Acid Rich Diet Protects Against the Oxidative Modification of High Density Lipoprotein. *Free Radical Biology and Medicine*, 22(6), 1037-1045. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(96\)00490-X](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(96)00490-X)
- Stancu, C., & Sima, A. (2001). Statins: mechanism of action and effects. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 5(4), 378-387. <https://doi.org/10.1111/j.1582-4934.2001.tb00172.x>
- Talbot, C. P. J., Plat, J., Ritsch, A., & Mensink, R. P. (2018). Determinants of cholesterol efflux capacity in humans. *Progress in Lipid Research*, 69, 21-32. <https://doi.org/10.1016/j.plipres.2017.12.001>
- Tashiro, J., Miyazaki, O., Nakamura, Y., Miyazaki, A., Fukamachi, I., Bujo, H., & Saito, Y. (2009). Plasma pre beta1-HDL level is elevated in unstable angina pectoris. *Atherosclerosis*, 204(2), 595-600. <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2008.10.015>
- Teh, E. M., Dolphin, P. J., Breckenridge, W. C., & Tan, M. H. (1998). Human plasma CETP deficiency: identification of a novel mutation in exon 9 of the CETP gene in a Caucasian subject from North America. *Journal of Lipid Research*, 39(2), 442-456.
- Tian, L., Xu, Y., Fu, M., Peng, T., Liu, Y., & Long, S. (2011). The impact of plasma triglyceride and apolipoproteins concentrations on high-density lipoprotein subclasses distribution. *Lipids in Health and Disease*, 10, 17. <https://doi.org/10.1186/1476-511X-10-17>
- Tsioufis, C., Mantzouranis, E., Kalos, T., Konstantinidis, D., & Tousoulis, D. (2018a). Chapter 1.4 - Risk Factors of Atherosclerosis: Pathophysiological Mechanisms. In D. Tousoulis (Ed.), *Coronary Artery Disease* (p. 43-66). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811908-2.00004-0>
- Tsioufis, C., Mantzouranis, E., Kalos, T., Konstantinidis, D., & Tousoulis, D. (2018b). Risk Factors of Atherosclerosis. In *Coronary Artery Disease* (p. 43-66). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811908-2.00004-0>

- Tsuchiya, S., Yamabe, M., Yamaguchi, Y., Kobayashi, Y., Konno, T., & Tada, K. (1980). Establishment and characterization of a human acute monocytic leukemia cell line (THP-1). *International Journal of Cancer*, 26(2), 171-176.
- Tuck, K. L., & Hayball, P. J. (2002). Major phenolic compounds in olive oil: metabolism and health effects. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 13(11), 636-644. [https://doi.org/10.1016/S0955-2863\(02\)00229-2](https://doi.org/10.1016/S0955-2863(02)00229-2)
- Tunstall-Pedoe, H., Kuulasmaa, K., Mähönen, M., Tolonen, H., Ruokokoski, E., & Amouyel, P. (1999). Contribution of trends in survival and coronary-event rates to changes in coronary heart disease mortality: 10-year results from 37 WHO MONICA project populations. Monitoring trends and determinants in cardiovascular disease. *Lancet (London, England)*, 353(9164), 1547-1557.
- Turner, S., Voogt, J., Davidson, M., Glass, A., Killion, S., Decaris, J., ... Hellerstein, M. (2012). Measurement of Reverse Cholesterol Transport Pathways in Humans: In Vivo Rates of Free Cholesterol Efflux, Esterification, and Excretion. *Journal of the American Heart Association: Cardiovascular and Cerebrovascular Disease*, 1(4). <https://doi.org/10.1161/JAHA.112.001826>
- Urpi-Sarda, M., Casas, R., Chiva-Blanch, G., Romero-Mamani, E. S., Valderas-Martínez, P., Arranz, S., ... Estruch, R. (2012). Virgin olive oil and nuts as key foods of the Mediterranean diet effects on inflammatory biomarkers related to atherosclerosis. *Pharmacological Research*, 65(6), 577-583. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2012.03.006>
- Varthaman, A., Khallou-Laschet, J., Thaunat, O., Caligiuri, G., & Nicoletti, A. (2008). L'athérogenèse - Une maladie dysimmunitaire. *médecine/sciences*, 24(2), 169-176. <https://doi.org/10.1051/medsci/2008242169>
- Vasudevan, A. R., Hamirani, Y. S., & Jones, P. H. (2005). Safety of statins: effects on muscle and the liver. *Cleveland Clinic Journal of Medicine*, 72(11), 990-993, 996-1001. <https://doi.org/10.3949/ccjm.72.11.990>
- Vieillissement et santé. (2015). Consulté 4 juin 2018, à l'adresse World Health Organization website: <http://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/ageing-and-health>
- von Eckardstein, A., Nofer, J. R., & Assmann, G. (2001). High density lipoproteins and arteriosclerosis. Role of cholesterol efflux and reverse cholesterol transport. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 21(1), 13-27.
- Wang, K., & Subbaiah, P. V. (2000). Importance of the free sulfhydryl groups of lecithin-cholesterol acyltransferase for its sensitivity to oxidative inactivation. *Biochimica Et Biophysica Acta*, 1488(3), 268-277. [https://doi.org/10.1016/s1388-1981\(00\)00130-x](https://doi.org/10.1016/s1388-1981(00)00130-x)
- Wang, N., Silver, D. L., Costet, P., & Tall, A. R. (2000). Specific binding of ApoA-I, enhanced cholesterol efflux, and altered plasma membrane morphology in cells expressing ABC1. *The Journal of Biological Chemistry*, 275(42), 33053-33058. <https://doi.org/10.1074/jbc.M005438200>
- Weinbrenner, T., Fitó, M., Torre, R. de la, Saez, G. T., Rijken, P., Tormos, C., ... Covas, M.-I. (2004). Olive Oils High in Phenolic Compounds Modulate Oxidative/Antioxidative Status in Men. *The Journal of Nutrition*, 134(9), 2314-2321. <https://doi.org/10.1093/jn/134.9.2314>
- WHO | WHO global report: mortality attributable to tobacco. (s. d.). Consulté 10 mai 2019, à l'adresse WHO website: https://www.who.int/tobacco/publications/surveillance/rep_mortality_attributable/en/
- Widhalm, K., & Pakosta, R. (1991). Precipitation with polyethylene glycol and density-gradient ultracentrifugation compared for determining high-density lipoprotein subclasses HDL2 and HDL3. *Clinical Chemistry*, 37(2), 238-240.
- Widmer, R. J., Freund, M. A., Flammer, A. J., Sexton, J., Lennon, R., Romani, A., ... Lerman, A. (2013). Beneficial effects of polyphenol-rich olive oil in patients with early atherosclerosis. *European Journal of Nutrition*, 52(3), 1223-1231. <https://doi.org/10.1007/s00394-012-0433-2>

- Wilkinson, M. J., Laffin, L. J., & Davidson, M. H. (2014). Overcoming toxicity and side-effects of lipid-lowering therapies. *Best Practice & Research. Clinical Endocrinology & Metabolism*, 28(3), 439-452. <https://doi.org/10.1016/j.beem.2014.01.006>
- Willett, W. C., Sacks, F., Trichopoulou, A., Drescher, G., Ferro-Luzzi, A., Helsing, E., & Trichopoulos, D. (1995). Mediterranean diet pyramid: a cultural model for healthy eating. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 61(6 Suppl), 1402S-1406S. <https://doi.org/10.1093/ajcn/61.6.1402S>
- Wilson, P. W., Abbott, R. D., & Castelli, W. P. (1988). High density lipoprotein cholesterol and mortality. The Framingham Heart Study. *Arteriosclerosis (Dallas, Tex.)*, 8(6), 737-741.
- Yusuf, S., Hawken, S., Ounpuu, S., Dans, T., Avezum, A., Lanas, F., ... INTERHEART Study Investigators. (2004). Effect of potentially modifiable risk factors associated with myocardial infarction in 52 countries (the INTERHEART study): case-control study. *Lancet (London, England)*, 364(9438), 937-952. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(04\)17018-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(04)17018-9)
- Yvan-Charvet, L., Pagler, T. A., Wang, N., Senokuchi, T., Brundert, M., Li, H., ... Tall, A. R. (2008). SR-BI inhibits ABCG1-stimulated net cholesterol efflux from cells to plasma HDL. *Journal of Lipid Research*, 49(1), 107-114. <https://doi.org/10.1194/jlr.M700200-JLR200>
- Zannis, V. I., Cole, F. S., Jackson, C. L., Kurnit, D. M., & Karathanasis, S. K. (1985). Distribution of apolipoprotein A-I, C-II, C-III, and E mRNA in fetal human tissues. Time-dependent induction of apolipoprotein E mRNA by cultures of human monocyte-macrophages. *Biochemistry*, 24(16), 4450-4455.
- Zannis, Vassilis I., Chroni, A., Kypreos, K. E., Kan, H.-Y., Cesar, T. B., Zanni, E. E., & Kardassis, D. (2004). Probing the pathways of chylomicron and HDL metabolism using adenovirus-mediated gene transfer. *Current Opinion in Lipidology*, 15(2), 151-166.
- Zannis, Vassilis I., Fotakis, P., Koukos, G., Kardassis, D., Ehnholm, C., Jauhiainen, M., & Chroni, A. (2015). HDL biogenesis, remodeling, and catabolism. *Handbook of Experimental Pharmacology*, 224, 53-111. https://doi.org/10.1007/978-3-319-09665-0_2
- Zhang, P.-Y., Xu, X., & Li, X.-C. (2014). Cardiovascular diseases: oxidative damage and antioxidant protection. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 18(20), 3091-3096.

8 ANNEXE

« Reproduction autorisée par Quantimetrix »

Lipoprint® HDL Subfractions Testing System



For Research Use Only

REF 48-9002



Quantimetrix Corporation
2000 Manhattan Beach Blvd.
Redondo Beach, CA 90278
+1 310.336.3056

INTENDED USE

The Quantimetrix Lipoprint System HDL Subfractions Kit is a polyacrylamide gel electrophoresis test intended to separate and measure HDL subfractions cholesterol in fasting serum or plasma. The HDL kit is intended for Research Use Only (RUO) - Not for use in diagnostic procedures.

SUMMARY AND EXPLANATION OF THE TEST

Coronary artery disease (CAD) is one of the leading causes of illness and death [1]. Serum lipid and lipoprotein levels are the most highly correlated factors contributing to increased risk of coronary artery disease. The utility of these biochemical parameters in predicting coronary risk was demonstrated by the Framingham lipid study [2,3].

The National Cholesterol Education Program (NCEP) Adult Treatment Panel recommends that individuals at moderate or high risk undergo more extensive lipoprotein analysis, including the determination of low-density lipoprotein cholesterol (LDLC), high density lipoprotein cholesterol (HDLC), and very low density lipoprotein cholesterol (VLDLC).

HDL cholesterol has been shown to have an inverse relationship with coronary disease risk. As a general rule, HDL cholesterol levels below 35 mg/dL are considered as an independent risk factor. Dietary and drug therapy has been recommended for all individuals in the high-risk category.

Using analytical ultracentrifugation, two major subclasses of HDL have been identified named HDL₂ and HDL₃ [4]. These subfractions have also been separated by means of various precipitation techniques [5,6] and pore gradient polyacrylamide gel electrophoresis [7]. Ballatyne et al [8] showed that an inverse correlation exist between two HDL₂ levels and myocardial infarction. Patsch et al demonstrated a negative relationship between HDL₂ and postprandial lipemia [9]. The significance of the HDL₃ subfraction and coronary risk is not well understood.

More recent studies using 4-30% gradient polyacrylamide gel electrophoresis show that HDL₂ and HDL₃ are in themselves heterogeneous, consisting of at least two and three subfractions, respectively [10]. Using the Lipoprint HDL polyacrylamide gel system, up to ten subfractions of HDL have been resolved, which are grouped into three categories: Large, Intermediate and Small relative to particle size.